Gewidmet Herrn

O.Univ.Prof.i.R. Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Franz LETTNER (†)

Tagungsband

6. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

SEKUNDÄRWIRKUNGEN VON FUTTERINHALTSSTOFFEN - VOM NÄHRSTOFF ZUM WIRKSTOFF -

15. November 2007, Wien

Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie

Department für Lebensmittel-wissenschaften und -technologie

BOKU – University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna
Universität für Bodenkultur Wien

Tagungsband:

6. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

Sekundärwirkungen von Futterinhaltsstoffen - vom Nährstoff zum Wirkstoff -

15. November 2007, Wien

Herausgeber:

Dr. Christian Plitzner
Margit Kraft
Univ.-Prof. Dr. Wilhelm Matthias Windisch

Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie

Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie

Universität für Bodenkultur Wien

Gregor Mendel-Strasse 33, A-1180 Wien

www.dlwt.boku.ac.at/tte.html

tte@boku.ac.at

Eigenverlag:

Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie

Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie der BOKU Wien

ISBN 978-3-900962-70-8

Für den Inhalt der Beiträge sind allein die Autoren verantwortlich

Nachruf
O.Univ.Prof.i.R. Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Franz LETTNER

Mit tiefer Bestürzung haben wir Anfang März diesen Jahres das Ableben von O.Univ.Prof.i.R. Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Franz Lettner hinnehmen müssen. Die Universität für Bodenkultur Wien und insbesondere die MitarbeiterInnen aus dem Umfeld der Tierernährung und Futtermittelkunde verlieren damit einen überaus geschätzten Kollegen und Freund.

Franz Lettner war Jahrgang 1936 und stammte aus einem landwirtschaftlichen Betrieb in Obererb bei Wels. Er schlug einen geradlinigen Ausbildungsweg ein, der ihn von der Höheren Bundeslehranstalt „Francisco-Josephinum" in Wieselburg mit ausgezeichnetem Abschluss über die Praxis der Futtermittelwirtschaft in Mattighofen schließlich im Jahre 1956 an die damalige Hochschule für Bodenkultur nach Wien zum Studium der Landwirtschaft führte. Nach dessen Studienabschluss im Jahre 1961 setzte er seine akademische Laufbahn als wissenschaftlicher Mitarbeiter am damaligen Institut für Tierproduktion fort, erwarb im Jahre 1963 das Doktorat (Dr.nat.techn.) und habilitierte 1971 im Fachgebiet Tierproduktion unter besonderer Berücksichtigung der Tierernährung. Im Jahre 1975 wurde er zum außerordentlichen Universitätsprofessor (Ao.Univ.Prof.) ernannt und mit der Leitung der Abteilung Tierernährung am Institut für Tierproduktion der Universität für Bodenkultur Wien betraut. 1988 folgte schließlich die Berufung zum Ordinarius (O.Univ.Prof.) für Tierernährung.

In der Forschung bearbeitete Franz Lettner ein breites Feld. Ausgehend von Untersuchungen zur Schlachtkörper- und Fleischqualität von Rind, Schwein und Geflügel wandte er sich bald den Einsatzmöglichkeiten verschiedener Futtermittel in Rationen landwirtschaftlicher Nutztiere unter den spezifischen Gegebenheiten Österreichs zu. Die Verwertung einheimischer Eiweißfuttermittel als Alternative zu importiertem Sojaextraktionsschrot, die Grundfutteraufnahme bei Milchkühen und Pferden sowie die Aspekte der Fütterungsintensität in der Rinder-, Schweine- und Geflügelmast zählten zu seinen besonderen Anliegen. Ein weiterer Schwerpunkt seiner Forschungstätigkeit lag in der Bedeutung der Tierernährung zur Sicherstellung einer hohen Qualität und Sicherheit tierischer Lebensmittel und einer möglichst effizienten und folglich umweltschonenden Fütterung im Sinne einer ökologisch verträglichen Nutztierhaltung.

Als Universitätslehrer hat sich Franz Lettner hohe Verdienste erworben. Er war über Jahrzehnte hinweg in Berufungskommissionen tätig und hat als Vorsitzender der Studienkommission das Landwirtschaftsstudium an der Universität für Bodenkultur Wien nachhaltig gefördert und geprägt. Er war bei den Studierenden sehr beliebt, nicht nur Dank seiner didaktischen Fähigkeiten. Dabei verstand er es, die Tierernährung so interessant zu vermitteln, dass er die Studierenden in großem Umfang zur Diplomarbeit auf seinem Arbeitsgebiet gewinnen konnte. Viele blieben ihrem Lehrer treu, was aus der großen Anzahl an Dissertationen und insbesondere dem stattlichen Erfolg von 5 Habilitationen hervorgeht. All diese Arbeiten mündeten in eine Vielzahl an Publikationen in hochrangigen wissenschaftlichen Journalen und war selbst langjähriger Redakteur des wissenschaftlichen Journals "Die Bodenkultur". Franz Lettner trug dadurch maßgeblich zur Pflege des wissenschaftlichen Nachwuchses und der internationalen Anerkennung der Universität für Bodenkultur Wien bei.

Ungeachtet seiner Erfolge in Forschung und Lehre hielt Franz Lettner stets den engen Bezug zum landwirtschaftlichen Umfeld aufrecht. So verstand er es, neue wissenschaftliche Erkenntnisse in klare Informationen für die Praxis zu übertragen. Davon zeugen seine vielen anwendungsbezogenen Fachartikel und Vorträge sowie die tiefe Wertschätzung der Landwirtschaftskammern und der Futtermittelindustrie als verlässlicher Kooperationspartner. Darüber hinaus war Franz Lettner mit seiner breiten wissenschaftlichen und praktischen Kompetenz an den verantwortungsvollen Zulassungsverfahren von Futterzusatzstoffen im Rahmen der österreichischen Futtermittelkommission und nach dem EU-Beitritt Österreichs dem Scientific Committee for Animal Nutrition (SCAN) maßgeblich beteiligt.

O.Univ.Prof.i.R. Dipl.Ing. Dr.nat.techn. Franz Lettner starb am Donnerstag, den 1. März 2007 im 71. Lebensjahr und fand seine letzte Ruhestätte in Abtsdorf in der Nähe des Attersees. Er wird uns als vorbildlicher Wissenschaftler, Universitätslehrer und Freund stets in bester Erinnerung bleiben.

Im Namen des Departments für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
und aller seiner ehemaligen Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter

Univ.Prof. Dipl.Ing. Dr. Wilhelm Matthias Windisch

Leiter der Abteilung
Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien

Inhaltsverzeichnis

M. W. Pfaffl:
Effekte von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen auf die Darm-Morphologie und das Immunsystem von Monogastriern 1

C. Wenk:
Secondary Effects of Dietary Fibre in the Nutrition of Monogastric Farm Animals 10

M. Stangassinger:
Zur Bedeutung der Nahrungsfaser für Entwicklung und Funktion des Verdauungstraktes beim Wiederkäuer 25

C. R. Soliva:
Plant secondary metabolites in ruminant nutrition: potentials and risks 33

J. Zentek, Hellweg, A. Khol-Parisini:
Spurenelemente als Faktoren der Tiergesundheit 42

N. Le Floc'h:
Impact of health deterioration and environment on tryptophan metabolism and requirement in pigs 47

C. Franz:
Funktionelle Pflanzenstoffe in der Tierernährung und –gesundheit 53

Veronika Kolar, Herbert Würzner:
Aktuelle Themen zum Futtermittelrecht 62

C. Binter, A. Khol-Parisini, W. Gerner, K. Schäfer, Christine Leeb, H. Hulan, A. Saalmüller, J. Zentek:
Omega-3 Fettsäuren in der Sauenfütterung: Fettsäurenstatus der Saugferkel in Zusammenhang mit einem sich entwickelnden Immunsystem 68

S. Fleige, H. H. D. Meyer, W. Preißinger, M. W. Pfaffl:
Laktulose: Effekt auf die Morphologie des Gastrointestinal-traktes und auf die Modulation der Immunfunktionen in probiotisch gefütterten Kälbern 73

S. Masanetz, K. Schedle, W. Windisch, M. W. Pfaffl:
Effekte von Pinienpollenextrakten auf das Wachstum von ilealen Schweinezellkulturen 80

W. Awad, J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli, K. Ghareeb, J. Zentek:
Deoxynivalenol impairs Na+-dependent glucose transport in the gastrointestinal tract of laying hens 89

A. Petersson, K. J. Domig, E. Moser, K. Schedle, W. M. Windisch, W. Kneifel:
Einsatz Real-Time PCR basierender Analytik zur molekularbiologischen Charakterisierung der Darmmikrobiota 96

W. Preißinger, C. Büttel, A. Obermaier, S. Masanetz, M. W. Pfaffl:
Inulin und Lactulose in der Kälbermast - Auswirkungen auf Futteraufnahme und Leistung 102

K. Schedle, M. Pfaffl, W. M. Windisch:
Morphologische Veränderungen des Darmgewebes bei unterschiedlicher Zufuhr an unlöslichen Ballaststoffen am Modell des Absetzferkels 110

S. Steindl, W. M. Windisch, K. Schedle:
Effekte unlöslicher Ballaststoffe auf mikrobiologische Parameter im Verdauungstrakt des Absetzferkels 116

G. Dusel, J. Trautwein, A. Vikari:
Einfluss von VITACEL® Rohfaserkonzentrat auf zootechnische Parameter, den Gesundheitszustand und die Entwicklung des Gastrointestinaltraktes beim Kalb 122

L. Nollet, L. De Lange, A. Kocher, W. Beeks:
The effect of Mannan oligosaccharide in starter feed on technical performance on a high performing broiler flock 131

I. Krieg, R. Krieg, A. Kroismayr, J. Leibetseder, K. Neufeld, N. Neufeld, J. Zentek:
Einfluss einer neuartigen Lignocellulose auf Gesundheitsstatus und Ausfallsquote in der Kaninchenmast 134

L. Chrastinová, M. Chrenková, A. Lauková, J. Rafay, M. Simonová, Z. Vasilková, R. Szabóová, V. Strompfová, L. Ondruška, S. Faix, I. Plachá:
Effect of dietary herbal extracts on health and performance of rabbits 144

P. Mareš, L. Novák, L. Zeman, P. Kratochvílová, M. Večerek:
The Evaluation of Phytogenic Additives Using in Pig Nutrition 149

S. Großpötzl, A. Kroismayr, W. M. Windisch, C. Plitzner:
Untersuchungen zur Wirkung eines phytobiotischen Zusatzstoffes auf die Entwicklung von Aufzuchtkälbern 152

L. Mazuranok, D. Bravo:
Carcass and digestive effects of Xtract and avilamycin on broiler in Mediterraneen conditions 157

A. Asamer, J. Perner, T. C. Loh:
The effect of the phytogenic product BIOSTRONG® 510 and phytase on growth performance and nutrient digestibility in broiler chicken 163

S. Handl, P. Hellweg, A. Khol-Parisini, B. Rossmann, K. Thurner, W. Luf, J. Novak, J. Zentek:
Effekt von Oregano (O. majorana x O. vulgare) auf Leistung und antioxidative Kapazität von Wachteln 169

J. Oswald, W. Wetscherek:
Wirkung von Oregano auf die Aufzuchtleistung von Ferkeln 174

J. Oswald, K. Zitterl-Eglseer, W. Wetscherek:
Transfer von Thymol und Carvacrol aus dem Futter in die Milch von Sauen sowie die Auswirkung auf die Entwicklung der Saugferkel 183

J. Perner, K. R. Wendler, E. Zentner, I. Mösenbacher-Molterer:
The effect of the phytogenic product Aromex ME Plus on the reduction of noxious gases in the stable climate 187

P. Nagel, K. J. Domig, W. Hagmüller, S. Pfalz, S. Kronsteiner, B. Ortner, A. Sundrum, W. Zollitsch:
Effects of silage or probiotics on performance and gut microbial composition of organic growing-finishing pigs 192

P. Daněk, M. Rozkot, J. Smola:
Simultaneous administration of probiotic and antibiotic in weaned piglets 199

S. Henikl, V. Klose, P. Schmuckenschlager, K. Bayer, V. A. Sattler, G. Schatzmayr, H. Danner, A. P. Loibner:
Efficacy testing of probiotic strains with the cell line IPEC-J2 204

I. Voß-Hagen, E. Mathies:
Wirksamkeit des mikrobiellen Zusatzstoffes BONVITAL in der Broilermast 210

L. Raab, E. Mathies:
Ergebnisse zum Langzeiteinsatz des mikrobiellen Zusatzstoffes Provita LE in der Kälberaufzucht 214

M. A. Calvo Torras, C. Adelantado, G. Jiménez, M. Castillo, G. Meyer, A. Blanch:
In vitro inhibition/stimulation of the growth capacity of gut bacteria by TOYOCERIN® (Bacillus cereus var. toyoi) 218

F. Reisenberger, C. Isenburg:
Cernivet® LBC ME 10 - Probiotikum in Pharmaqualität -Review - verschiedene Wirksamkeitsstudien 224

S. Roth, C. Scheidemann, H. Steingass, K. Staudt, S. Andrieu:
Effect of live yeast on rumen fermentation parameters in dairy cattle over a 4-week period 233

S. Roth, C. Scheidemann, H. Steingass, S. Andrieu:
Einsatz von Lebendhefe bei Hochleistenden Milchkühen unter deutschen Bedingungen 239

U. Eidelsburger, C. Wald, N. Portocarero-Khan:
Effect of potassium diformate (Formi®) inclusion at two different dietary protein levels on performance and health of weaner piglets 248

K. Bühler, B. Bucher, C. Wenk:
Wirkung von Benzoesäure in faserreichem Futter auf die Nährstoffverdaulichkeit und die Produktion flüchtiger Fettsäuren bei wachsenden Schweinen 255

K Schöndorfer, G Böck, Y Acosta Aragon, G Schatzmayr:
Lactic acid bacteria and enzymes as silage additives 261

C. Lückstädt, T. Steiner, S. Nitsch, N. Kvietkute, A. Stupeliene, V. Sasyte, R. Gruzauskas:
Organic acid supplementation enhances the performance of post-weaning piglets 267

P. Schlegel, S. Durosoy, M. Dupas:
Iron status evolution of weaned piglets either fed iron sulfate or iron glycinate 273

G. Dusel, F. Zeller, C. Rapp:
Spurenelementstatus von Milchkühen – eine Feldstudie 279

L. Nollet, R. Geers, P. Spring:
Evaluation of substituting inorganic minerals by a stepdown programme of chelated trace elements in broilers 286

L. Nollet, L. L. M. de Lange, G. Oude Elferink:
Producing selenium enriched eggs by different Se-sources in the feed 290

Z. Čerešňáková, M. Chrenková, P. Fľak, M. Poláčiková:
Phosphorus disappearance from selected feedstuffs determined by in sacco technique 294

V. Wagner, W. Windisch, A. Busch-Petersen, S. Swoboda, T. Ettle:
Effekte unterschiedlicher Dosierungen von Kaliumjodid und Kaliumjodat in der Mastschweinefütterung 299

J. Sudzinová, M. Chrenková, J. Kováčik:
Nutritional value of raw and heat treated pea (Pissum sativum) in balance and growth experiment with rats 307

P. Kratochvílová, L. Novák, L. Zeman:
The mycotoxins' Effect on Growth Parameters of Laboratory Rats 312

S. Nitrayová, J. Heger, P. Patráš, M. Brestenský:
Apparent and true ileal amino acid digestibility of rye in piglets and finishing pigs 320

A. Jerešiūnas, R. Stankevičius, J. Kulpys, J. Šiugždaitė:
Einfluss der MischfutterZusammensetzung auf Eubiose im Darm von Absetzferkeln 324

K. Rutzmoser, W. Preißinger, A. Obermaier:
Vergleich der ME-Aufnahme mit den Empfehlungen bei der Aufzucht männlicher Fleckviehkälber bis etwa 200 kg Lebendgewicht 332

P. Doležal, I. Vyskočil, L. Zeman:
Influence of chemical additive supplementation on the chemical composition of lupine silage 337

L. Novák, L. Zeman, P. Novák:
The Evaluation of Additives Effect on Individual Growth of Animals Body Weight 342

J. Haidvogl, W. M. Windisch, C. Plitzner:
Auswirkungen der temporären Ammenkuhhaltung auf die Milchinhaltsstoffe 349

S. Mikulionienė, D. Stasiūnienė, A. Januškevičius:
Aktuelle Fragen des Futtermittelgesetzes in Republik Litauen 354

Y. Acosta Aragón, C. Lückstädt, T. Steiner, G. Boeck, A. Klimitsch, G. Schatzmayr, Sigrid Pasteiner:
The use of humectants in preservatives to modify the a_w-value 360

Effekte von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen auf die Darm-Morphologie und das Immunsystem von Monogastriern

Michael W. Pfaffl

Lehrstuhl für Physiologie, ZIEL, Technische Universität München

Einleitung

Das Immunsystem ist für den Schutz vor Infektionen von grundsätzlicher Bedeutung für das Nutztier. Durch die Fütterung kann die Kompetenz des Immunsystems stark beeinflusst werden und somit auch die Pathogenese von Erkrankungen teils erheblich moduliert werden. Bis heute wurde hauptsächlich der Einfluss der essentiellen Nährstoffe (Kohlenhydrate, Proteine, Fette, Vitamine, Spuren- und Mengenelemente) untersucht, aber die Wirkungen der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe auf die Ernährungsphysiologie sowie das Immunsystem stehen noch im Hintergrund. Physiologische Prozesse wie Zell-Differenzierung, Zellproliferation und programmierter Zelltod (Apoptose) und deren Beeinflussbarkeit durch natürlich vorkommende Wirkstoffe erlangen in der Tierernährung zunehmendes Interesse, gerade vor dem Hintergrund des heutigen Verbots antibiotischer Futterzusatzstoffe mit leistungsfördernder Wirkung (Verordnung EG Nr. 183/2003 Artikel 11 Absatz 2). Die Problematik der Antibiotikaresistenzen entwickelte sich schleichend über die letzten Jahrzehnte und entstand durch den breiten Einsatz von Antibiotika in der Humanmedizin, Veterinärmedizin und als prophylaktischer Leistungsförderer in der Tierhaltung. Es erscheint sinnvoll in der Tierernährung nach potenten und umweltfreundlichen Alternativen zu suchen, die das Immunsystem natürlich stabilisieren ohne gesundheitliche Risiken für Mensch und Tier.

Das Darmimmunsystem

Das Darmepithel stellt die erste Zellschicht zum Eintritt von ernährungsphysiologisch erwünschten Nährstoffen in den Organismus dar. Toxische Inhaltsstoffe der Nahrung oder pathogene Mikroorganismen werden nur dann ausgeprägte pathologische Wirkungen im Darm entfalten können, wenn die morphologische und funktionelle Barriere des Darmepithels eingeschränkt ist. Das Ileum, der hinterste Teil des Dünndarms, stellt den immunologisch aktivsten Teil des Verdauungstraktes dar, sozusagen den Schnittpunkt zwischen Nahrung und Immunsystem. 70% der Immunantwort im Säugerorganismus gehen von Darmgeweben und deren lokalem Immunsystem aus. Alternative Maßnahmen, die der Erhaltung oder Verbesserung der Struktur, der funktionellen Integrität des Epithels und der eingelagerten Lymphknoten dienen, erhalten so eine neue und besondere Bedeutung. Um Schweine, vor allem Ferkel dennoch gesund zu erhalten, drängen viele alternative Futtermittelzusätze auf den Markt. Von Substanzen, die als Pro-, Prä- und Synbiotika wirken sollen, bis hin zu Kräutermischungen und seltenen Erden sind verschiedenste Futtermittelzusätze und Additive im Handel erhältlich.

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe lassen sich aufgrund ihrer Molekülstruktur in unterschiedlichen chemischen Gruppen zusammenfassen (z.B. Flavonoide, Carotinoide, Terpene, Isothiozyanate). Die zunehmende Zahl an Fütterungsadditiven auf Pflanzenbasis kennzeichnet bereits einen aufkommenden Trend. Heute sind schon einige *„Kräuterbeimischungen"* für die Schweinefütterung erhältlich, aber die eigentlich immunologisch aktiven Substanzen und deren Wirkungen liegen noch im Dunkeln. Es besteht aber keineswegs ein Verständnis für die Wirkungsspektren dieser Stoffe, und damit für eine gezielte Bewertung bzw. einen gezielten Einsatz in der Fütterung. Weiterhin sind mögliche Wechselwirkungen mit anderen Substanzen und etwaige Risiken in der Futterherstellung sowie im Fütterungseinsatz unerforscht. Zum sicheren Einsatz gehören auch praxistaugliche Analyse- und Nachweisverfahren.

Über die immun-stimulierenden und immun-modulatorischen Wirkmechanismen von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen liegen bisher wenig wissenschaftliche Kenntnisse vor. Hinweise für eine Beeinflussung des Immunsystems durch sekundäre Pflanzenstoffe gibt es für Carotinoide, Flavonoide, Phytoöstrogene, und Saponine (Steinmetz & Potter, 1996). Im Weiteren ist bekannt, dass Flavonoide die Aktivität von Immunzellen sowie wichtigen Schlüsselenzymen beeinflussen und einzelne Schritte in der Signaltransduktion hemmen können (Briviba et. al., 2002; Watzl & Rechkemmer, 2001).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass besonders sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe wie Carotinoide und Flavonoide im physiologischen Dosisbereich das Immunsystem modulieren können (Middleton et al., 2000), wobei sowohl von stimulierenden als auch von suppressiven Wirkungen auszugehen ist.

Forschungsziele

Ziel ist es, alternative Futterzusätze zu testen, die die Gesundheitsstörungen beim Nutztier vermindern oder ganz vermeiden. Ein besonderer Aspekt war die Verwendung natürlicher Pflanzeninhaltsstoffe, z.B. polyphenolreicher Apfel- und Rotweintrester, Kräutermischungen reich an etherischen Ölen, ballaststoffreiche Fütterungen oder Laktulose und Inulin mit pre-biotischen Effekten. Folgende Fragestellungen und Forschungsziele stehen im Mittelpunkt:

1. Aufbau einer Versuchsanordung in der Ferkel- und Schweinefütterung zur detaillierten Untersuchung von potentiellen Futterzusatzstoffen mit gesundheitsförderndern, immunmodulierender und geg. leistungsfördernder Wirkung;
2. Verknüpfung der praxisbezogenen ernährungsphysiologischen Forschung mit molekularen Forschungsansätzen: Histologie und Darmmorphometrie, molekulare Physiologie, molekulare Immunologie und Systembiologie;
3. Suche nach potenten und umweltfreundlichen Alternativen gegenüber Antibiotika, insbesondere in der Fütterung von Monogastriern;
4. Definierung der Wirkungsspektrum von Reinsubstanzen, Kräutermischungen sowie „Reststoffen" aus der Lebensmittelindustrie;
5. Erhaltung und Verbesserung der Bakterienflora, der Darmmorphologie, und somit der funktionellen Integrität des Darmepithels und der eingelagerten Lymphknoten;

6. Erfassung und Analyse der Bakterienpopulationen im Darm und des Blutbildes zur Abschätzung des Immunstatus;
7. Gewinnung neuer Erkenntnisse auf dem Gebiet der immun-stimmulierenden bzw. immun-modulierende Effekte und deren physiologische Auswirkungen;

=>**Stimulation der körpereigenen Immunabwehr über eine natürliche Gesund- und Leistungsfütterung**

Versuchsansätze

Um Erkenntnisse über die Effekte auf das Immunsystem und das Wachstum in Ferkeln zu gewinnen, wurden im Rahmen diverser Forschungsansätze verschiedene *in vitro* und *in vivo* Versuche durchgeführt.

Auf zwei unserer Studien wird im Folgenden eingegangen:

A) Im ersten Tierversuch wurden Apfel- und Rotweintrester aus der Lebensmittelproduktion, die reich an sekundären Flavanoiden sind, als Futterzusatz verwendet. Man kann die natürlichen Potentiale der sekundären Inhaltsstoffe nutzen und sie kostengünstig in der Tierfütterung einsetzen.

B) Im zweiten Ansatz hat man die Pollen der chinesischen Gelbkiefer (*pinus massoniana*) als Zusatz in einem Ferkelversuch verwendet um deren bis dato unbeschriebenen Wirkungen auf molekularer Ebene zu beschreiben.

A) Flavonoide in Trestern: Flavonoide sind die in der Nahrung am häufigsten vorkommenden Polyphenole und bestehen grundsätzlich aus 3 Kohlenstoffringen mit 2 aromatischen und einem O-heterozyklischen Ring. Sie besitzen anti-oxidative, anti-virale, anti-kanzerogene sowie anti-inflammatorische Wirkungen und stellen in den Pflanzen einen wirksamen Schutzwall gegenüber exogenen Angriffen dar (Watzl & Rechkemmer, 2001). Flavanole sind primär in Tee, Früchten und daraus hergestellten Getränken enthalten, v.a im Apfelsaft und Rotwein. Neben den monomeren Flavanolen enthalten pflanzliche Lebensmittel auch oligomere Flavanole wie die Procyanidine in Äpfeln, dunkler Schokolade und Rotwein. Die Flavonoide befinden sich überwiegend in den Randschichten der Pflanzen sowie den äußeren Blättern (Watzl & Rechkemmer, 2001). So beinhaltet der Apfeltrester 80% der in den Äpfeln enthaltenen Flavonoide.

Als Modellsysteme dienten Ferkel in Fütterungsversuch sowie weiße Blutzellen (WBC = Leukozyten isoliert aus dem Blut), die in Zellkultur mit verschiedenen Flavanoiden stimuliert wurden. In einem ersten *in vitro* Vorversuch wurde mit primären weißen Blutzellen gearbeitet. Die kultivierten Zellen konnten mit zwei wichtigen phenolischen Vertretern, z.B. EGCG und Catechin (isoliert aus grünen Tee-Extrakten) stimuliert werden.

Dabei zeigten sich einige stimulierende und konzentrationsabhängige Effekte auf die gesamten RNA Expression und auf die mRNA Expressionslevel von ausgewählten Markergenen. In unseren Studien bewirkten höhere EGCG- und Catechin- Konzentrationen eine Verringerung der gesamten RNA

Expression, wobei EGCG den größeren Effekt zeigte. Bei dem zweiten *in vitro* Versuchsansatz konnte festgestellt werden, dass EGCG und Catechin meist die beobachteten mRNA Expressionen von pro-inflammatorischen Markergenen abregulierte. Catechin verursachte eine Aufregulierung des pro-inflammatorischen Zytokins TNFα. EGCG erhöhte TNFα mRNA Expression nur in sehr hohen Konzentrationen.

Zusammenfassend kann man in den zwei *in vitro* Zellkulturversuche von positiven Effekten bei beiden Flavanoide sowohl auf die immunrelevanten Zytokine als auch auf die Expression der Transkriptionsfaktoren feststellen. Höhere Flavanoidgaben zeigten ausgeprägtere Einflüsse als geringere, wobei EGCG die mRNA Genexpression stärker veränderte als Catechin (Sehm et al., 2005).

Der Schwerpunkt dieses Forschungsvorhabens bildete der *in vivo* Fütterungsversuch in Zusammenarbeit mit Dr. Lindermayer vom Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft (LfL, Grub). Im Fütterungsversuch wurden 78 Ferkel mit 3,5% TS Apfel- oder Rotweintrester gefüttert. Als Beobachtungszeitraum wurden die Tage um den Absetztermin gewählt, da dort die meisten immunrelevanten Veränderungen in der Umwelt und beim Futterwechsel stattfinden, und auch bekanntermaßen die meisten Ferkelverluste zu verzeichnen sind.

In Zusammenarbeit mit der Lehrstuhl für Obstbau, TUM Weihenstephan (Prof. Treutter) konnten die wichtigsten Polyphenolvertreter im Futter, im Mageninhalten und im Chymus nachgewiesen werden. In den tierischen Organen und Geweben waren mittels sensitiver HPLC Analytik nur Spuren der Polyphenole nachweisbar.

Positiv ist zu bemerken, dass keines der Tiere aus der Studie wegen Krankheit oder Totalverlust ausfiel. Leider konnten keine Unterschiede in den täglichen Zunahmen der einzelnen Fütterungsgruppen beobachtet werden. Die beiden polyphenolreichen Fütterungen zeigten einen positiven Einfluss auf die Bakterienpopulationen im Colon. In den Trester behandelten Gruppen wurden krankmachende *E. coli* Bakterienstämme mehr verdrängt, während sich die Anzahl der gesundheitsfördernden *Laktobazillen* sich erhöhte.

Auch im Blutbild konnten unterschiedliche Effekte durch die Fütterungen gemessen werden. Die Ergebnisse des Blutbildes zeigten, das die Leukozytenzahl in der Kontrollgruppe anstieg, was auf eine Aktivierung des Immunsystems hinweist, wobei sich in den Behandlungsgruppen keine Veränderungen zeigten. Die Thrombozytenzahl ging bei der Rotweintrestergruppe signifikant zurück.

Einem weitern Schwerpunkt bildete die Erfassung der Darmmorphometrie. Folgende Parameter wurden bei der Vermessung im GIT (Magen, Jejunum, Ileum, Colon; siebe Abbildung 1) und im mesenterialen Lymphknoten erfasst: Größe der Zotten und Krypten (Länge, Breite und Fläche) sowie der Lymphknoten und Peysersche Platten (Fläche, Anzahl und Lymphfollikel). Die darmmorphometrischen Studien via Histologie ergaben, dass die unterschiedlichsten Effekte der polyphenolreichen Fütterungen im Jejunum, Ileum und im Colon nachweisbar waren. Bei Rotwein-Tresterzulage verringerte sich das Zottenwachstum im Jejunum. Beide Tresterzulagen hatten wachstumsstimulierenden Effekte im Colon. Die Lymphfollikelflächen der Peyerschen Platten im Ileum nahmen nur in der Kontrollgruppe zu, was wie im Blut für eine Aktivierung der Lymphsystems in der nicht behandelten Kontrollgruppe spricht (Sehm et al., 2007).

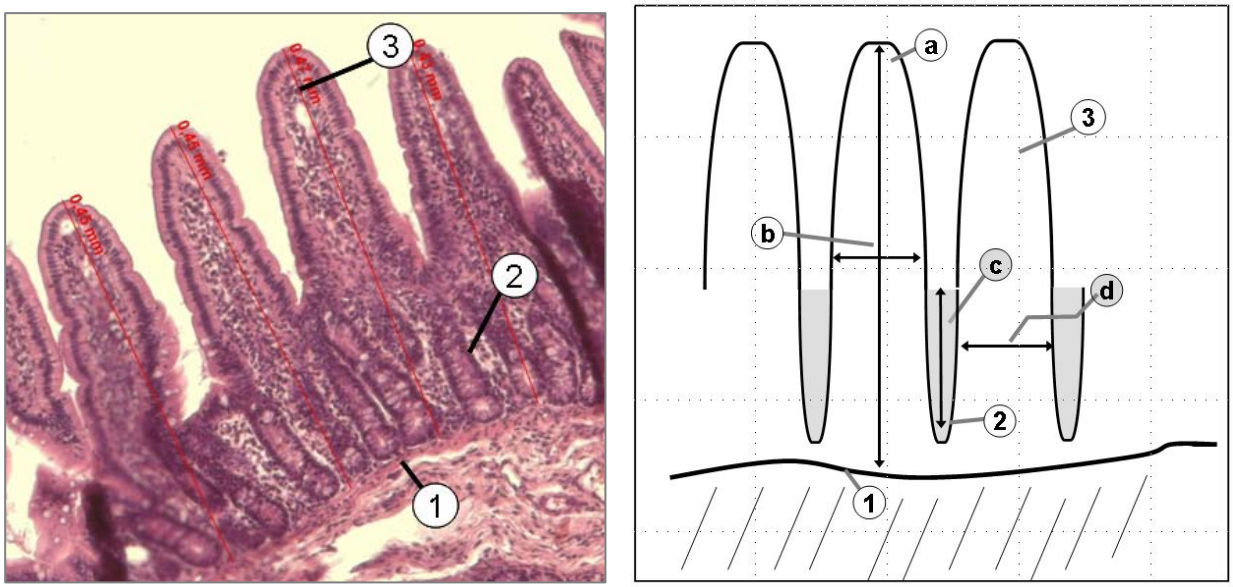


Abbildung 1: Darmmorphometriemessung im GIT: 1.) Lamina muscularis mucosae; 2.) Lieberkuhn Krypten; 3.) Darmzotte. Dünndarm: a) Länge und b) Breite der Zotten; Dickdarm: c) Tiefe und d) Breite der Krypten.

In den Expressionsanalysen wurde gezeigt, das Caspase 3 im Jejunum mit der Zeit abreguliert wurde, dagegen im Colon aufreguliert. Die Veränderungen waren in den Behandlungsgruppen oft signifikant größer als in der Kontrollgruppe (Sehm et al., 2006).

Die *in vivo* Studie zeigte, dass sich die beiden Tresterfütterungen bei den Ferkeln gesundheitsfördernd auswirkten. Sowohl die Darmflora, Lymphknoten (Peyersche Platten im Ileum) sowie die Darmzotten wurden von beiden Tresterfütterungen positiv beeinflusst.

B) Pinienpollen: Als Modellsubstanz für eine faserreiche Fütterung wurden Pollen der chinesischen Gelbkiefer (*pinus massoniana*) in einem Ferkelversuch eingesetzt. Die Pinienpollen haben einen sehr hohen Fasergehalt mit 60 % Ballaststoffe mit überwiegendem Anteil an Cellulose (ca. 15 %) und sind insgesamt kaum verdaulich (Zhao et al. 2006). Ihre positive Wirkung auf die Darmgesundheit, v.a. bei Obstipation, ist in der traditionellen chinesischen Medizin bereits seit langem beschrieben. Durch den hohen Ballaststoffanteil, kann von einer prebiotischen Wirkung durch die pinienpollen-reiche Fütterung im Nutztier ausgegangen werden (Zhao et al. 1996, 2006). Es werden aber auch Wirkungen über Phystoöstrogene und Polyphenole diskutiert (Strohl et al., 1964; Kroyer & Hegedus, 2001). In diesem Zusammenhang sollte in der vorliegenden Fütterungsversuch untersucht werden, inwieweit die Zulage (Pinienpollen vs. Weizenkleie) zu einem praxisüblichen Ferkelfutter die Aufzuchtleistung beeinflusst und das Immunsystem der Ferkel modulieren kann. Es wurde die Regulation diverser Markergenexpressionen im Verdauungstrakt und in verschiedenen Organen quantifiziert.

Die Studie wurde mit 48 Absetzferkeln der Kreuzung Edelschwein x Pietrain an der landwirtschaftlichen Fachschule Hatzendorf in der Steiermark in Kooperation mit der Universität für Bodenkultur (Prof. Windisch) durchgeführt. Eine Ferkelgruppe diente als Kontrolle, die keine extra

zugesetzte Faserquelle erhielt. Die zweite Gruppe bekam 3 % Weizenkleie. Zwei weitere Fütterungsgruppen erhielten 1,275 % Pinienpollen oder 2,550 % Pinienpollen als Zulage. Der Zusatz in den beiden höher dosierten Fasergruppen wurde so gewählt, dass die Zulage an Ballaststoffen jeweils identisch waren (+16 g TDF/kg Futter). Nach fünf Wochen wurden die Tiere in der betriebseigenen Schlachtstätte (Hatzendorf, Steiermark) geschlachtet und Gewebeproben von Magen, Jejunum, Ileum, Colon und Lymphknoten entnommen. Für die Expressionsmessung wurden die Darmgewebeproben in NaCl gewaschen in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80°C gelagert. Zusätzlich wurden histologischen Proben für die Erfassung der Darmmorphologie des GIT entnommen. Siehe auch Beitrag von Schedle et. al.: *Morphologische Veränderungen des Darmgewebes bei unterschiedlicher Zufuhr an unlöslichen Ballaststoffen am Modell des Absatzferkels.*

Die angewendeten Ballaststoffzusätze zeiget eine Steigerung der Zottenlänge im Dünndarm (Jejunum und Ileum): Weizenkleie + 7%, Pollen +9% bis +14%. Jedoch Weizenkleie (+10%) und Pollen niedrig (+7%) bewirkten eine Verbreiterung der Zotten, Pollen hoch dagegen verringerte die Breite. In der Folge steigerte sich auch die Zottenoberfläche bei Weizenkleie und Pollen. Ein ähnlicher Trend war auch im Ileum festzustellen. Im Colon konnte eine numerische Vertiefung der Crypten beobachtet werden. In den Peyerschen Platten des Ileums, sowie in den Lymphknoten, konnten keine Veränderungen der Lymphfollikel festgestellt werden. Die Anzahl der Lymphfollikel pro Lymphknoten konnte durch *Pollen hoch* signifikant gesenkt (-11%) werden, was die Verringerung der Immunaktivität zeigt.

Zur Analyse der Genexpression wurde total-RNA mittels TriFast (PeqLab, Erlangen, Deutschland) extrahiert. Anschließend wurde die RNA-Ausbeute mittels Biophotometer ermittelt. Die cDNA Synthese erfolgte nach dem Protokoll des Herstellers mit 1500 ng total RNA durch das Enzym Reverse Transkriptase (M-MLV RT RNase H(-) Point Mutant incl. Puffer, Promega, Mannheim, Deutschland), Random Hexamer Primer (Invitrogen, Carlsbad, USA) und dNTPs (10mM) (MBI Fermentas, St. Leon-Rot Deutschland). Die relative Quantifizierung der cDNA wurde mit dem ep Cycler (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) durchgeführt. 20 ng cDNA in einem Volumen von 2 µl wurden als PCR Vorlage verwendet. Zusätzliche wurden 0,76 µl forward- Reverse Primer (10 pmol) (Invitrogen, Carlsbad, USA), 6,75 µl Real Master Mix (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) und Wasser auf ein endgültiges Volumen von 15 µl gebracht. Die quantitative PCR wurde mit 45 Zyklen und einer Produkt-spezifischen Annealing Temperatur durchgeführt. Die crossing points (Ct Werte) wurden mit der Ct Methode (Eppendorf Software, Hamburg, Deutschland) ermittelt. Die relative Quantifikation wurde durch die Referenzgene Histon H3 und beta-Actin sowie diversen physiologischen Markergenen nach der ΔΔCP Methode errechnet (Schmittgen 2001, Livak und Schmitttgen 2001). Folgende Markergene wurden in allen Geweben quantifiziert: Wachstum: IGF1 und GHR; Apoptose: Caspase 3; Proliferation: CDK4; Pro-inflammatorisch: TNFα; Anti-inflammatorsich: TGFβ; Transkriptionsfaktor: NFκB.

Es wurden je nach Zulage unterschiedliche Effekte bei der Genexpression der einzelnen Gewebe gemessen. So zeiget die hohe Pollenzulage eine verringerte Expression bei Caspase 3, CDK4, TGFβ, und IGF-1 im Magen und Jejunum. Im Lymphknoten konnte eine Abregulation der TGFβ Expression beobachtet werden. Zusammenfassend ist zu sagen, dass Pinienpollen die Proliferations-, Entzündungs- und Apoptose-Expressionsmarker auf mRNA Ebene eher abreguliert als aufreguliert.

In einer weiterführenden *in vitro* Studien wurde die Epithelzelllinie IPI-21 aus dem Schweineileum in Zellkultur etabliert und die Wirkung verschiedener Extrakte aus gemahlenen Pinienpollen (Wasser, Ethanol, Methanol und Hexan) untersucht (Scott et al., 1962). Man geht von weitern unbekannten Effekte der Pollen auf die Epithelzellen aus (Schedle et al., 2006). Da in den vorliegenden Extrakten keine unlöslichen Zellwandbestandteile enthalten sein sollten, besteht die begründete Vermutung, dass die hier beobachteten Effekte von anderen löslichen Inhaltsstoffen ausgelöst worden sind. Siehe auch Beitrag von Masanetz et. al.: *Effekte von Pinienpollenextrakten auf das Wachstum von ilealen Schweinezellkulturen.*

Systembiologie

Die Systembiologie versucht, biologische Organismen in ihrer Gesamtheit zu verstehen. Ziel ist es ein integriertes Bild über aller regulatorischen Prozesse in allen Organen, vom Genom über das Proteom zu dem Metabolismus zu erhalten. Um die Vielzahl der erhaltenen physiologischen Daten in Einklang zu bringen sind aufwendige mathematisch-analytische und statistische Algorithmen und Computersimulationen nötig. Die Systembiologie betrachtet die Gesamtheit des Organismus und macht sich Gedanken über Prozesse und wie diese sich im Laufe der Zeit verändern, jedoch mit einer radikalen Erweiterung der Dimensionen. In der Systembiologie werden tausende Parameter erfasst, wodurch sie in einer deutlich dynamischeren Sichtweise der Biologie resultiert als die der klassischen Molekularbiologie oder Genetik. Um die unterschiedlichen Datensätze vergleichbar zu machen müssen diese normalisiert werden (Bansal et al., 2007). Das heißt man muss sie alle in die gleiche Dimension konvertieren sodass keiner der untersuchten Parameter in der Analyse bevorzugt wird. Nach der Normalisierung werden die Datensätze mittels einer hierarchischen Clusteranalyse ausgewertet (Tichopad et al., 2006).

Um einen systembiologischen Ansatz zu zeigen haben wir im *„Pinienpollen"* Versuch 107 Datensätzen von 45 Ferkeln ausgewertet. Es wurden neben den Expressionsdaten der unterschiedlichsten Organe, die Ergebnissen der Darmmorphometrie sowie die Fütterungs- und Wachstumsdaten mit einbezogen (Abbildung 2). In einer weiteren neuen Studie sollen die auch die metabolischen Daten sowie die Daten der Besiedlung der Darmflora mit integriert werden.

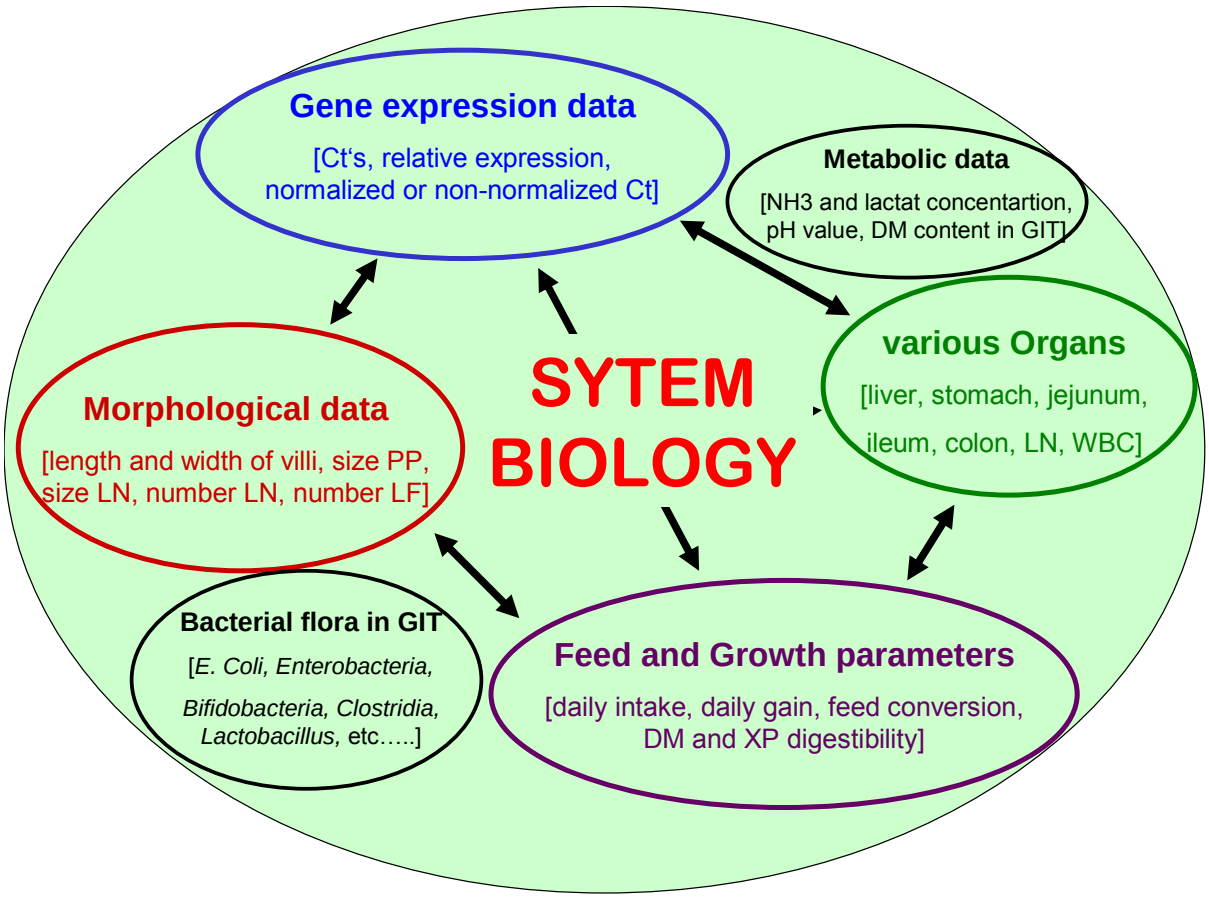


Abbildung 2: Systembiologische Auswertung unterschiedlicher Datensätze am Beispiel des Pinienpollen Ferkelversuchs.

Als Ergebnis der Clusteranalyse ist zu beobachten, dass verschiedene Organe Subcluster bilden, das heißt dass die Regulation der Genexpressionen unterschiedlicher Gene innerhalb eines Gewebes ähnlich sind. Auch die morphologischen Daten zeigten alle ein abgeschlossenes Subcluster. Interessanterweise finden wir auch einen engen Zusammenhang in einem Subcluster zwischen der Expression immunologischer Parameter im Ileum und der Morphologie der Lymphfollikel sowie der Protein- und Rohfaserverdaulichkeiten. Ein weiteres Subcluster finden wir im Jejunum zwischen der Expression immunologischer Markergene und der absoluten Futterverwertung.

Zusammenfassung

Zusammenfassend ist zu sagen, dass sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe das Immunsystem als auch die ernährungsphysiologischen Parameter signifikant und gewebespezifisch modulieren können. Dies äußert sich in einem veränderten Wachstumsverhalten, einer veränderten Morphologie des GIT und einer Beeinflussung der endogenen mRNA Expressionsmuster der Gewebe.

Aus dem systembiologischen Ansatz, der Clusteranalyse, ergab sich ein direkter Zusammenhang zwischen Futterverwertung und Immunparametern im Jejunum, sowie auch zwischen Verdaulichkeit,

Morphologie der Lymphknoten und Expression immunrelevanter Markergene im Ileum. So lässt sich sehr schön der direkte Einfluss der Fütterung bzw. Ernährung auf die Morphologie des Darmes uns auf das Immunsystem veranschaulichen.

Literatur

Bansal M, Belcastro V, Ambesi-Impiombato A, di Bernardo D. (2007) How to infer gene networks from expression profiles. Mol Syst Biol. 78(3): 1-10.

Briviba K., Pan L., Rechkemmer G. (2002): Red wine polyphenols inhibit the growth of colon carcinoma cells and modulate the activation pattern of mitogen-activated protein kinases. J. Nutr. 132, 2814-2818

Kroyer G., Hegedus N. (2001): Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. Innov Food Sci Emerging Tech. 2, 171-174

Livak K.J., Schmittgen T.D. (2001): Analysis of relativ gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. Methods 25, 402-408.

Middleton, Jr. E., Kandaswami Ch., Theoharis C., (2000) The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells:Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer Pharmacol Rev Vol. 52, 673-751

Schedle K., Pfaffl M., Windisch W.(2006): Modellversuch an Absetzferkeln zur Wirkung von Rohfaser auf zootechnische Leistungen und die Expression des inflammatorischen Markergens TNFα im Gastrointestinaltrakt. Tagungsband des 5. BOKU-Symposiums Tierernährung, 164-168

Schmittgen T.D. (2001): Real time quantitative PCR, methods. 2001, 383-385.

Scott R.W., Strohl M.J. (1962): Extraction and identification of lipids from loblolly pine pollen. Phytochemistry Vol. 1, 189-193

Sehm J., J. Polster & MW. Pfaffl (2005) Effects of varied EGCG and (+)-catechin concentrations on pro-inflammatory cytokines mRNA expression in ConA stimulated primary white blood cell cultures.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(17): 6907-6911

Sehm J., H. Lindermayer, H. H. D. Meyer and M. W. Pfaffl (2006) The influence of apple- and red-wine pomace rich diet on mRNA expression of inflammatory and apoptotic markers in different piglet organs.

Animal Science 82(6): 877-887

Sehm J., H. Lindermayer, C. Dummer, D. Treutter, and M. W. Pfaffl (2007) The influence of apple pomace or red-wine pomace rich diet on the gut morphology in weaning piglets. J Anim Physiol Anim Nutr 2007 91(7-8): 289-296.

Steinmetz K.A., Potter J.D., (1996) Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. J Am Diet Assoc. 96(10): 1027-1039

Strohl M.J., Seikel M.K. (1964): Polyphenols of pine pollens. Phytochemistry Vol. 4, 383-399

Tichopad, A., Pecen, L., & Pfaffl, M.W. (2006) Distribution-insensitive clustering in SAS on real-time PCR gene expression data of steadily expressed genes. Comput Methods Programs Biomed. 82(1): 44-50

Watzl B., Rechkemmer G., Flavonoide, Ernährungs-Umschau 48 (2001) Heft 12

Zhao, L., Windisch, W. and Kirchgessner, M. (1996) A study on the nutritive value of pollen from the Chinese Masson Pine (Pinus massoniana) and its effect on fecal characteristics in rats. Z. Ernährungswiss. 35, 341-347.

Zhao, L., Windisch, W., Roth, F,X, Eder, K., and Ettle, T. (2006) Nutritive value of Masson Pine pollen in comparison to wheat bran and effects on stool characteristics. Austrian J. Agric. Res., submitted

Korrespondenzadresse

Michael Pfaffl
ZIEL - Abteilung für Physiologie
Weihenstephaner Berg 3
D-85354 Freising
e-Mail: michael.pfaffl@wzw.tum.de

Secondary Effects of Dietary Fibre in the Nutrition of Monogastric Farm Animals

Caspar Wenk

Institute of Animal Sciences, ETH Zürich, Universitätstr. 2, CH-8092 Zürich, Switzerland

Summary

Dietary fibre (DF) is usually defined as the sum of plant polysaccharides and lignin that are not hydrolysed by endogenous enzymes of the mammalian digestive system (non-starch polysaccharides and lignin). The amount and composition of DF varies over a wide range between and within feedstuffs. Furthermore a precise distinction between DF and starch is far from easy and physiologically not possible. There is also a floating transition from DF to prebiotics what means that DF have more or less specific activities mainly in the digestive tract of monogastric farm animals. Therefore the analysis as well as the physiological function of DF in the digestive tract of the animal can vary considerably. The age or body mass of the animal also interacts with the digestive processes and there is an adaptation developing in the animal over the time of exposure to fibrous diets.

DF is primarily considered a dietary fraction with a low energy content. Addition of DF to the diet has a diluting which is used to increase the feed intake during low performance of animals. DF influences transit time with usually a reduction in the upper and increase in the lower digestive tract and therefore decreases the digestibility of almost all nutrients and energy. On the other hand it increases the microbial growth in the gastrointestinal tract (GIT) quantitatively and qualitatively. This can lead to an increased excretion of nutrients in the faeces. Finally, DF can modulate the immune system and beneficially influence the wellbeing and health of animals. Fibrous feedstuffs give pigs the opportunity to chew the feed over a longer time. Thus, more short chain fatty acids are produced in the GIT and eventually undesired microorganisms are excluded. A regular peristaltic action avoids the possibility of constipation. The splitting of all these effects into primary and secondary activities is far from easy.

Keywords:Dietary fibre, nutrients, energy, pigs, poultry, digestion

What is dietary fibre?

Already in the late 18th century Albrecht Thaer (1752 – 1828) recognized the importance of the different plant materials in relation to the feeding values, when he created the term hay unit "Heuwert" in his book "Grundsätze der rationellen Landwirthschaft" (1809). According to his observations 100 kg of pasture hay had the same feeding value like 90 kg clover hay or 200 kg potatoes. The lower nutritive value of some plants was explained by less available nutrients. An important step forward in the understanding of DF was achieved with the "Weender" analysis by Henneberg and Stohmann (1860), by which they distinguished between the crude fibre fraction and nitrogen-free extracts. This concept has been used in feed evaluation systems for almost 150 years, although it was later recognised that the crude fibre fraction does not describe DF with sufficient accuracy (e.g. Nehring, 1960). Today DF are usually defined as plant polysaccharides that cannot be hydrolysed by endogenous enzymes of the digestive tract. Lignin is also included although it is not a carbohydrate.

Table 1:Concept of Dietary Fibre

Sugars	
monosaccharides (glucose, fructose, ...)	**immediately absorbable**
disaccharides (sucrose, maltose, ...) **oligosaccharides (maltotriose, ...)**	**absorbable only after hydrolysation by endogenous enzymes**
Polysaccharides	
reserve polysaccharides (starch, ...)	
structural polysaccharides / dietary fibres (pectin, hemicelluloses, cellulose, ... ; lignin, ...)	**cannot be hydrolysed by endogenous enzymes**
modified polysaccharides (modified starch, . . .) **others**	

Dietary fibres (DF) or non-starch polysaccharides (NSP) can comprise up to 90% of the cell wall materials of plants. The most abundant plant cell wall DF include cellulose, hemicelluloses, and pectins. A smaller group of DF can serve as storage polysaccharides within the plant (fructans, glucomannans, and galactomannans). There are other DF like β-glucans or gums. Unlike starch, which is hydrolyzed by pancreatic amylase to glucose, DF are not hydrolyzed by mammalian enzymes. They are rather fermented by the gastrointestinal tract microflora.

In contrast to DF, oligosaccharides generally have only 3 to 9 monosaccharide units. They may contain similar or different monosaccharides, various linkage structures, and may be linear or branched chain. Like DF, oligosaccharides are not hydrolyzed by mammalian enzymes, but are mostly fermented by the gastrointestinal microbiota. Prebiotics, defined as "Non-digestive food / feed ingredients which beneficially affect the host by selectively stimulating the growth and/or activity of one or a limited number of bacterial species already resident in the digestive tract and thus attempt to improve host health" (Gibson and Roberfroid, 1995) belong at least partly to the fraction of the DF and particularly to the oligosaccharides. More general many DF have prebiotic functions. A non

[enzymatically] digestible dietary ingredient that beneficially affects the host by stimulating the activity, in terms of fermentation end products and stability of the diverse commensal microbiota in the GIT (Gibson *et al.* 2004; Awati, 2005)

Lignin is not a polysaccharide but rather a high-molecular-weight polymer composed of phenylpropane residues formed by condensation of the aromatic alcohols, cinnamyl, guaiacyl, and syringyl alcohols (Southgate, 1993). Lignin is not considered a functional dietary ingredient and is essentially indigestible by swine. It is often responsible for the detrimental effect of DF on the digestibility of other nutrients.

Digestive system of monogastric farm animals and its microflora

The processes in the digestive tract of farm animals are of great importance in the understanding of the influence of nutrition on metabolism. In comparison to ruminants, non-ruminant animals have a 'simple' stomach, in which only slight microbial modifications of available nutrients take place before absorption occurs. Mainly in the lower parts of the digestive tract, from the terminal ileum to the rectum, microorganisms are in contact with undigested materials or endogenous substrates to a considerable degree, and the products of this microbial fermentation may partly be absorbed by the host animal.

Most digestive processes in non-ruminant animals occur under anaerobic conditions. Feed digestion depends on the quantity and composition of the diet. The size and function of the organs of the digestive tract as well as the digesta retention time in different parts of the GI tract are further important characteristics. In Fig. 1 the digestive tract of the pig is schematically presented in comparison with that of cattle and poultry.

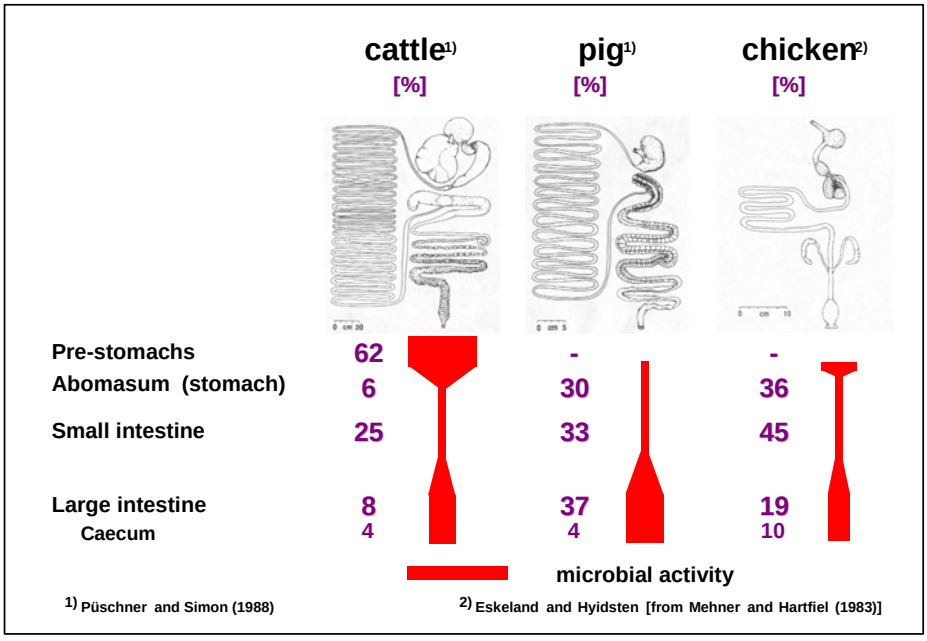


Figure 1: Comparison of the digestive tract of cattle, pigs and poultry

The digestive tract of the pig can be divided mainly into three different compartments, stomach, small intestine and large intestine. The stomach represents about 30 % of the total volume of the digestive tract. Digestion begins in this part with a lowering of the pH. Some microbial activity may occur in the upper part of the stomach, but only if the pig ingests a high quantity of feed. In the stomach only a limited mixing of the feed occurs. Compared to other farm animals, the small intestine of pigs is longer and permits an intensive endogenous digestion at an almost neutral pH. In the lower ileum and especially in the caecum and lower large intestine (third compartment), an intensive microbial degradation takes place. In pigs, most available nutrients (protein, carbohydrates, fat, minerals and vitamins) are absorbed in the small intestine. In the large intestine, undigested feed components (mainly DF, lipids with a high melting point and insoluble proteins) and endogenous secretions are fermented by microorganisms. In this part, mainly short chain fatty acids (SCFA) and some vitamins are absorbed which can contribute to the nutrient supply of the animal.

The chicken, in comparison, has a crop before and a gizzard (a muscular stomach) below the true stomach (proventriculus), in which glands release endogenous secretions. Microbial activity in the crop becomes important if the feed remains for a longer period in this organ. In poultry, the microbial activity is low in the small intestine due to its small size and the high rate of passage. In the large intestine, the rate of passage is also faster, compared to the pig, thus limiting intensive microbial degradation.

The pig as a non-ruminant animal has only a small population of microorganisms in the stomach, relative to the lower parts of the digestive tract. Furthermore, it should be noted that ingested feed remains only for a short period of time in the stomach. Therefore, microbial activity in this part of the intestinal tract is rather limited. In the lower parts of the small intestine and mainly in the large intestine, an increased number of microorganisms can be found. Microbial growth and its metabolic turnover depend on several conditions. Body temperature offers optimal conditions. It also depends on the presence of substrates that can be metabolised. The substrates that will be made available can depend on the number of meals and the composition as well as the structure and technological treatment of the diets. These factors particularly influence digestion in the upper part of the digestive tract. Microorganisms of different species are in a continuous competition in the search for nutrients. Furthermore, endogenous digestion processes (with the secreted enzymes) affect microbial growth. The change of pH in the stomach and later in the small intestine is also a limiting factor for microorganisms. Finally, the rate of passage of digesta does limit microbial processes in different parts of the digestive tract.

The intestinal microbiota provides important protective functions to the host animal (Gaskins, 2001). A balanced, stable and healthy microflora (Eubiosis) is therefore of basic interest for the readiness to performance in monogastric farm animals. Dietary carbohydrates which escape digestion in the upper small intestine undergo digestion in the ileum and colon. This process affects the microbial ecology qualitativerly and qunititativerly (Blaut, 2002). Fermentable DF stimulate the growth of lactobacilli specifically in the piglet, as shown by Konstantinov *et al.* (2004). Furthermore, Högberg *et al.* (2004) found an effect on the coliform microflora in growing pigs. They concluded, that the dietary carbohydrate composition has an effective potential to prevent or provoke intestinal disorders in pigs. But the formation of a stable and healthy intestinal microflora a so called Eubiosis is not easy because too many factors interact with the growth of microorganisms (Bühler, 2006).

Jørgensen and Just (1988) have used ATP-concentration in the digesta as an indicator of microbial activity in the different parts of the digestive tract of pigs fed two different diets. One diet was mainly based on wheat flour. While the other contained wheat bran in addition to the wheat flour. Thus the second diet contained a higher level of DF than the first.

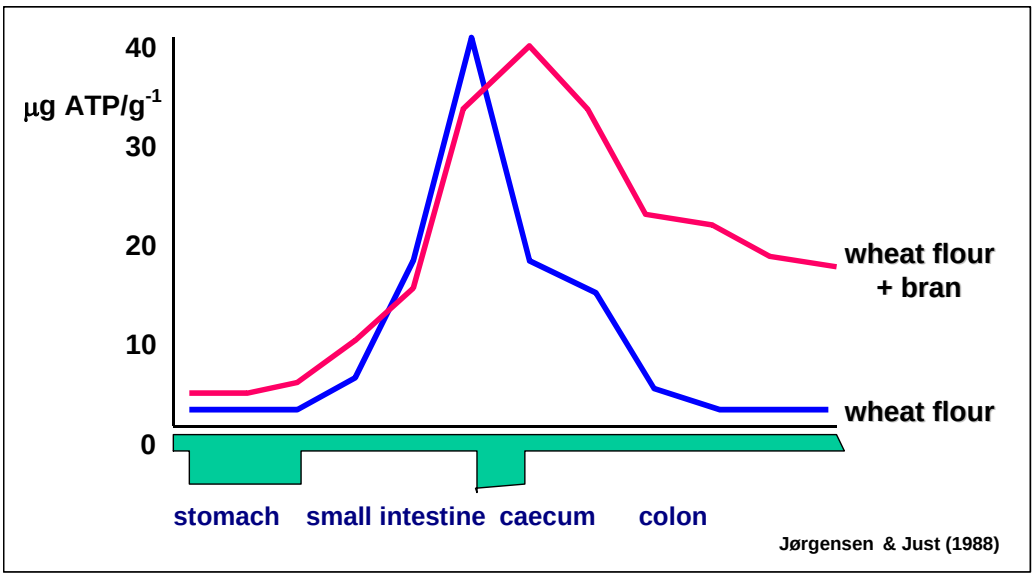


Figure 2: ATP-Concentration in the digesta of pigs as affected by dietary fibre.

For both diets, the ATP-concentration in the stomach was low (Fig. 2). With the diet containing only wheat flour the ATP-concentration rapidly increased already in the jejunum reaching a maximum at the end of the ileum followed by a sharp decrease in the caecum. Almost no ATP was detected in the colon. The shape of this curve indicates that with the low fibre diet the maximum microbial activity was observed at the end of the small intestine. Obviously due to the lack of substrates, the microbial activity decreased rapidly. In line with the first diet, an increased microbial activity was also observed in the small intestine with the second diet, which contained wheat bran. However, the maximum ATP-concentration was observed only at the end of caecum decreasing slowly but continuously during the later part of the large intestine. This slow decrease of ATP-concentration indicates that a high microbial activity was maintained throughout the large intestine. As a whole, the microbial activity with the diet containing wheat bran was far greater than with the diet that had a low fibre content.

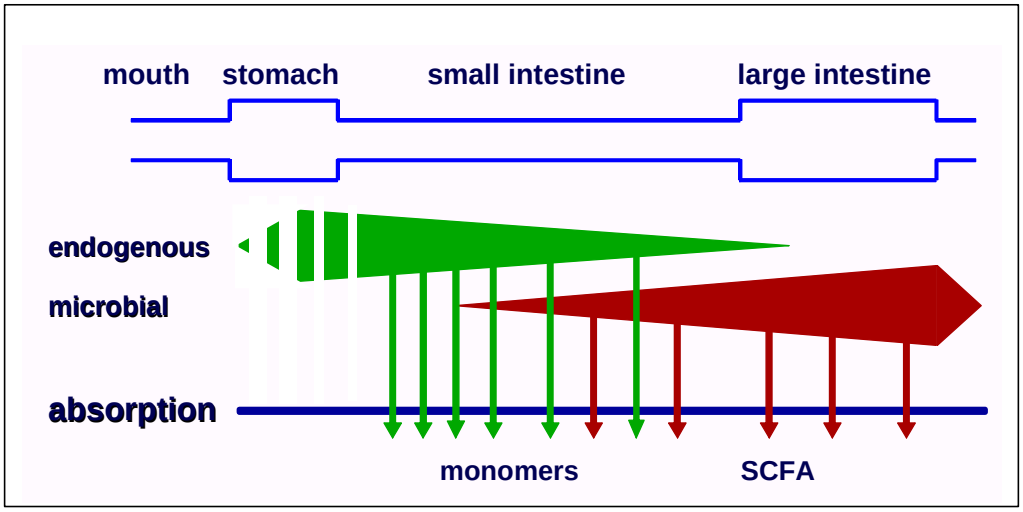


Figure 3: Competition between enzymes in the digestive tract

With the secretion of enzymes and other substances for endogenous digestion in the different parts of the digestive tract (saliva in the mouth, gastric juice in the stomach, pancreatic juice and secretions of the small intestine), macronutrients are digested so that the monomers for carbohydrates and / or oligomers for proteins and lipids can be absorbed in the small intestine (Fig 3). Microorganisms synthesise short chain fatty acids (SCFA) from unabsorbed nutrients. These can subsequently be absorbed and metabolised by the animal. According to experiments of Müller and Kirchgessner (1985), two third of microbially fermented organic matter can be utilised by the host animal. Beside SCFA, other end-products of microbial metabolism (like NH_3, CH_4, H_2O) can be found. Some of them are also absorbed but not utilised in the intermediate metabolism. In the pig, most nutrients that are incorporated into microorganisms will be excreted with the faeces. These include microbial protein. Because DF by definition cannot be digested by endogenous processes, they are metabolised mainly by microorganisms. Therefore it can be concluded that most digested DF will be utilised with a reduced efficiency as reported by Müller and Kirchgessner (1985) and Roth *et al.* (1988). Undigested DF will be excreted in faeces. Finally, the rate of absorption of different carbohydrates depends directly on the mechanisms available. Na-dependent active transport mechanisms with a high efficiency are available for glucose and galactose. Fructose is absorbed by a facilitated mechanism. If high amounts of fructose is present in the digesta, the facilitated diffusion will be insufficient for an efficient absorption, and therefore a large part of fructose will be passed to the large intestine and metabolised by microorganisms. Other monosaccharides such as mannose are, if at all, only absorbed by simple diffusion which is even slower than facilitated diffusion or an active transport mechanism. Therefore, these monosaccharides will mainly be absorbed and metabolised by microorganisms in the digestive tract.

Dietary Fibre and the Digestion Processes

In diets for pigs, DF is usually an integral part. It is not added as such and therefore the contribution of DF to the digestive processes has to be considered in relation to its origin. Generally, an increased fibre content of a diet is directly related to the amount of available nutrients and energy. A diet with a high fibre content usually contains less metabolisable energy than a diet with a low fibre content. This means that a high fibre diet induces satiety earlier due to gastric signals caused by elongation of the stomach wall than a low fibre diet (Langhans, 1999). This earlier satiety is of particular importance in pregnant sows. On the other hand in growing finishing pigs, a diet with a low fibre content will be preferred because this results in maximum intake of available nutrients and energy. An animal that reaches satiety both physically and nutritionally, is less stressed and therefore physical activity may be reduced (Rijnen *et al.*, 1999).

A diet with a high content of soluble fibre will cause more water binding in the stomach than a diet with a low fibre content or with insoluble fibre. A high amount of soluble DF causes an increased volume of digesta in the stomach and therefore increases both satiety and digesta transit time in this organ. Furthermore, in such situations the viscosity of digesta is increased and the pH is stabilised at a low level (Fig. 4) (Drochner and Coenen, 1986, van der Meulen and Bakker, 1991).

Figure 4: Postprandial pH-values (in stomach fundus) after meals with a low or high fibre content in pigs (Drochner and Coenen, 1986)

In an experiment carried out with growing pigs Drochner and Coenen (1986) studied the pH in the fundus region of the stomach after feeding diets containing low and high levels of fibre. After the high fibre diet the pH remained almost constant at about 2.5 while it rapidly increased to 4 when pigs were fed the low fibre diet. The pH value subsequently decreased gradually to a level similar to that with the high fibre diet over the next 6 hours. Johansen *et al.* (1996) also reported increased viscosity and water binding capacity of stomach contents in pigs.

As a more general observation, cellulose and insoluble lignified DF mainly reduced the faecal transit time and also the digestibility of the nutrients (Table 2). Effects on the processes in the stomach and on satiety as well as on microbial activity are limited. On the other hand, DF with a high solubility, like those from vegetables or fruits, can reduce the transit time and emptying of the stomach and prolong satiety. They increase the microbial activity and reduce the faecal transit time. The detrimental influence of soluble DF on nutrients is usually less pronounced than from insoluble DF.

Table 2: Effects of dietary fibre on the digestion processes in animals

	Type of effect of dietary fibers					
Source of dietary fibre	Slower the emptying of stomach	Achieving satiety	Shortening faecal transit time	Increasing microbial activity	Energy digestibility ileal	Energy digestibility faecal
Cellulose	*	*	***	-	****	****
Insoluble, lignified	*	*	****	*	****	****
Vegetables, fruits	**	**	*	****	**	*
Pectins / guar	****	***	*	****	**	*

(- not existing * weak ** medium *** relevant ****very important)

DF influence the intestinal morphology as well as the rate of intestinal cell turnover in pigs (Jin *et al.*, 1994) which ultimately can affect nutrient digestion, absorption and metabolism. Diets with a high fibre content also cause a significant increase in the secretion of endogenous fluids. This was clearly shown in experiments (Zebrowska *et al.* 1983) in which pigs were fed two diets with an identical crude fibre content. In treatment 1, the purified diet contained 50 g kg^{-1} DF in the form of cellulose but almost no soluble fibre. In treatment 2, the diet was based on barley and soybean meal and contained the same amount of crude fibre but far more DF than in treatment 1.

Table 3: Dietary fibre and endogenous secretions in the digestive tract of pigs weighting approximately 50 kg.

Ingredients:		**Purified diet 1**	Normal diet 2
		Casein, Starch, Cellulose, Vit. Min. premix	Barley, Soybean meal, Fish meal, Vit. Min. premix
Crude fibre	kg^{-1}	Identical	
Dietary fibre	kg^{-1}	50	180
Saliva and gastric juice	Ld^{-1}	4	8
Pancreatic juice	Ld^{-1}	1.2	2.2
Bile	Ld^{-1}	1.2	1.7

(Adapted from Zebrowzka *et al.* 1983).

As shown in Table 3, the increase in the DF content from 50 to 180 g kg^{-1} (mainly soluble DF) caused a doubling of the secretion of saliva and gastric juice in the pigs of 50 kg liveweight. Not only were the secreted fluids of the upper digestive tract increased, but pancreatic juice was almost doubled with the increased DF; bile was also significantly increased. The increased amount of secreted digestive fluids means an extra metabolic effort or demand for the pig. On the other hand a more efficient digestibility of the feed can be expected. The results of similar experiments reported by Mosenthin *et al.* (1994) with pectin as a source of soluble DF confirm the findings of Zebrowska *et al.* (1983). Most probably the increased secretion of digestive fluids is associated with a higher activity of

the secretory organs resulting in an enlargement of such organs. Jørgensen *et al.* (1996) reported a significantly heavier stomach, caecum and colon and also a longer colon in growing-finishing pigs fed diets containing high DF (268 g kg^{-1} DM) as compared to those fed a diet containing low DF (59 g kg^{-1} DM). Improved digestibilities of protein, dry matter and energy were however not associated with this modification, values in fact decreased.

A high fibre content of digesta increases peristaltic action and therefore reduces the transit time in the small as well as in the large intestine. Jørgensen *et al.* (1996) reported a five to six fold increase in the flow of digesta through the terminal ileum of pigs fed high DF. DF is a powerful tool against constipation especially in pregnant sows.

Unlignified soluble DF is a nutrient source for pigs. DF is not digested by endogenous processes of the pig but efficiently by the microbial flora. Although starch from cereals is digested almost completely by the time the digesta reaches the ileum, Bach Knudsen (1991) observed that a large portion of soluble fibre passes the ileum in pigs without being digested and therefore represents a good substrate for miro-organisms in the large intestine. Similar results for other feedstuffs have been reported by Gdala *et al.* (1991), Smits *et al.* (1991) and Schulz *et al.* (1998). Therefore, the microbial activity in the large intestine is generally increased with diets containing much soluble fibre as shown by Jørgensen and Just (1988) and by Bach Knudsen and Jensen (1991). The increased microbial activity in the digestive tract not only means a better utilisation of feed nutrients but also an increased excretion of microbial substances. As an ultimate result, soluble DF can reduce the absorption of nutrients (Rainbird *et al.*, 1984). However in pigs, the absorption of trace minerals is mainly reduced.

As discussed above, the physiological effects of DF on nutrient digestion result in a decreasing digestibility of energy with increasing fibre content of the diet. This was clearly demonstrated by Wenk (1980), who plotted the results of several digestibility experiments in which different dietary ingredients contributed to an increase in fibre content, measured as crude fibre (Figure 5).

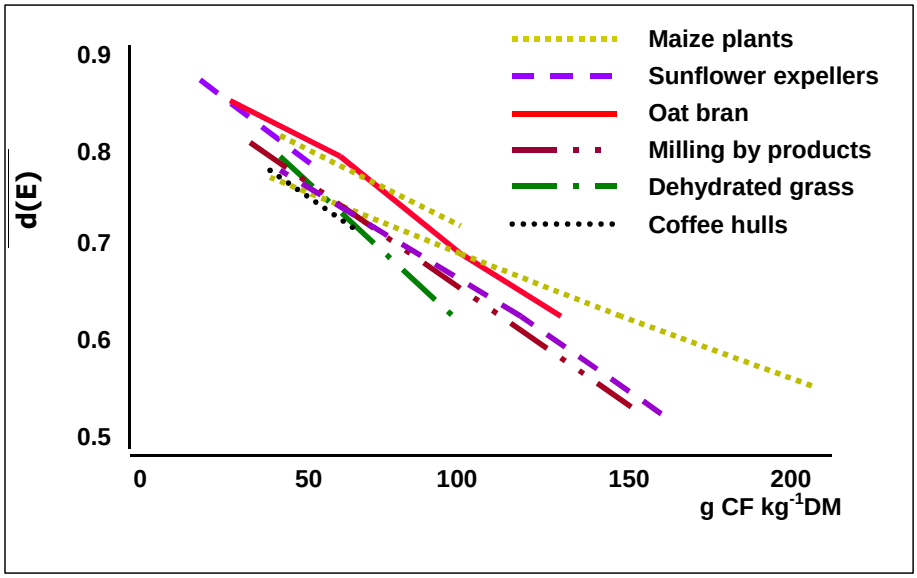


Figure 5: Digestibility of gross energy of pig diets in relation to the crude fibre content (Wenk, 1980)

In each single experiment a linear reduction of the digestibility of energy was observed with increasing fibre content. In general a reduction in the coefficient of gross energy digestibility (d(E)) of 0.025 per each 10 g crude fibre kg^{-1} dry matter was observed. The reduction of d(E) caused by the crude fibre content was more pronounced in diets with dehydrated grass or coffee hulls compared to entire maize plants. The composition of the fibre fraction might be an explanation for these differences. For instance maize plants are known to have a low lignin content. Similar observations were made by Henry (1971); Noblet and Perez (1993) and Wenk *et al.* (1980) who confirmed DF as a predominant factor in the determination of available feed energy (digestible, metabolisable or net energy) in pig diets. However, according to Low (1993), who reviewed the effects of DF on feed intake, digestion, nutrient absorption and metabolism, it may be difficult to express practical responses of pigs to high DF levels due to the direct and indirect effects of other nutrients in the diet.

The digestibility of DF is lower in young animals than in adult animals (Noblet and Knudsen, 1991) and the negative effects of DF on the digestibility of energy and nutrients are highest in young animals. With increasing weight and especially in adult animals, the detrimental effect of fibre is reduced (Fernández *et al.* 1986). Furthermore, this depressing effect is more pronounced in precaecal than in faecal digestibility of nutrients or energy. Drochner (1991) found a regression coefficient for the apparent digestibility of organic matter of -2.8 for precaecal and -1.8 for faecal digestibility. Similar observations were made by Wenk (1992) who measured the digestibility of organic matter and neutral detergent fibre (NDF) in digesta samples from different sites of the intestine of pigs fed a diet with a high fibre content (500 g entire maize plants kg^{-1}) with or without the supplementation of a carbohydrase (non commercial cellulase) using the indicator method. In these experiments an increasing digestibility was observed over the whole digestive tract. Furthermore, the enzyme supplementation increased the digestibility of organic matter especially in the small intestine, but also d(NDF) was higher in all parts of the digestive tract (Fig. 6).

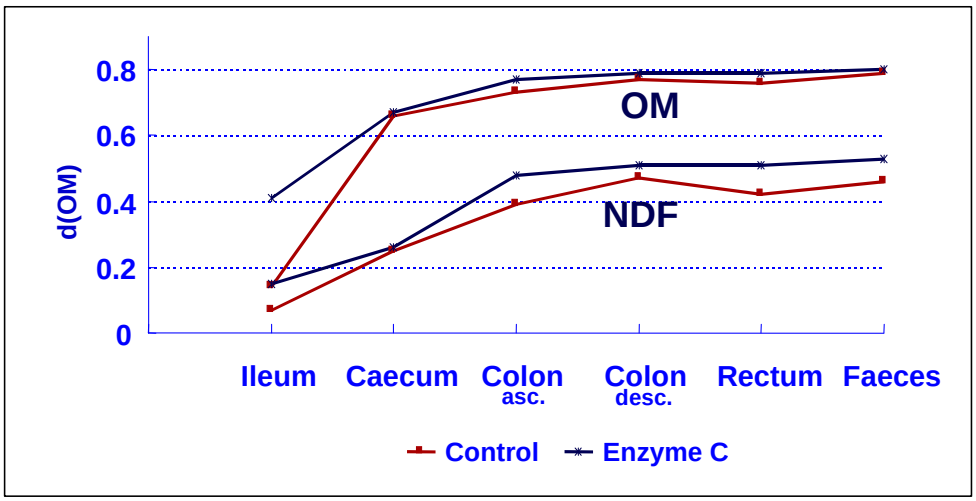


Figure 6: Digestibility of organic matter and neutral detergent fibre of a diet with a high fibre content (500 g entire maize plants kg^{-1}) with and without the supplementation of a carbohydrate splitting enzyme (Wenk, 1992).

Pigs do not have the same ability to utilise DF from different sources. Noblet and Bach Knudsen (1991) found that the digestibility of various fibre fractions in sows was higher for maize fibre and soyabean pulp than for wheat bran; digestibility of DF was 0.74 and 0.86 for maize fibre and

soyabean pulp, respectively, compared to 0.46 for wheat bran. Therefore, it is not only the level of DF that is important but the type or the fibre source also plays a significant role in digestion and absorption. Feeding similar levels of either wheat bran or sugarbeet fibre to pigs did not alter the absorption rate of glucose and amino nitrogen. However, sugarbeet fibre increased hindgut fermentation and therefore the absorption of volatile fatty acids (Michel and Rerat, 1998) thus indicating that the source of fibre has an important effect.

In experiments of Wenk and Zürcher (1990), the influence of the fibre source (namely soybean hulls, barley hulls, pea hulls and sorghum hulls) on the digestibility of energy was studied. The effect of crude fibre (CF), acid detergent fibre (ADF), neutral detergent fibre (NDF) and DF as well as lignin on the digestibility of energy was evaluated. The results are summarised in Fig. 7.

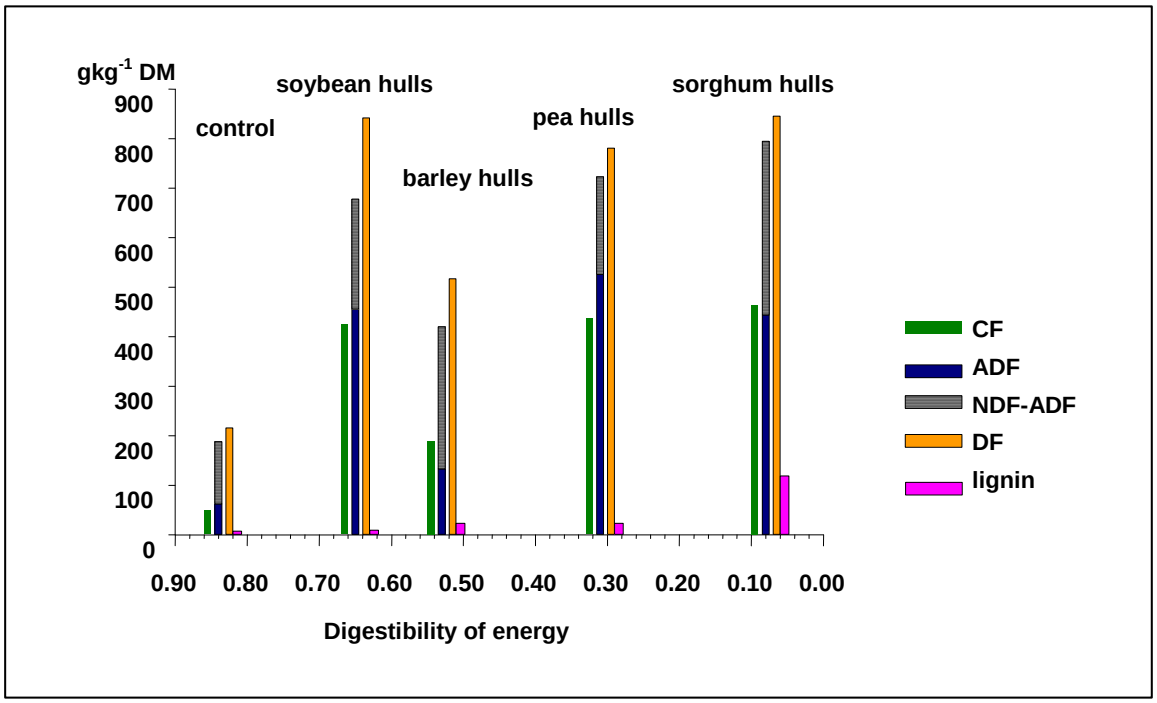


Figure 7: Digestibility of gross energy in relation to the dietary fibre content (in dry matter) of different sources (Wenk and Zürcher, 1990).

The digestibility of energy in the control diet was 0.84 and the lowest (d(E)=0.07) was recorded for sorghum hulls. With the exception of soybean hulls, an almost linear increase in fibre content (CF, ADF, NDF and DF) was associated with reduced digestibility. The main exception to this trend was found for soybean hulls which had similar levels of CF, ADF, NDF and DF as sorghum hulls, but far higher energy digestibility (d(E) = 0.64). Only the lignin content was lower in soybean hulls. Therefore, the conclusion was that the lignification of the DF in sorghum hulls was associated with the low digestibility of energy. The partition of the DF into insoluble (ADF or CF) and soluble DF (NDF-ADF) was not able to explain that difference.

The influence of lignin *per se* on the digestibility of energy was evaluated in two further experiments by Wenk *et al.* (1998). The experimental design is shown in Table 4. The lignin sources used were oak bark powder, calcium lignin sulphonate and sulphate-free lignin. The lignin sources are frequently used as dust binders or pelleting enhancers in pig and poultry diets and were added in amounts which corresponded to the same analysed lignin quantity in the diet of about 25 g kg^{-1}. Furthermore, the influence of a cellulolytic enzyme on the nutrient utilisation in relation to lignin supplementation was studied.

Table 4: Treatments to estimate the effect of lignin from different sources in combination with a carbohydrase enzyme in pigs (22 - 105 kg liveweight) diets on the digestion processes

	Type of the diet			
	Expt. 1		Expt. 2	
Enzyme supplementation[1)]:	-	+	-	+
Control diet	C	CE	C	CE
+ 1 g Oak bark powder kg^{-1}	O	OE		
+ 25 g Ca-lignin sulphonate[2)] kg^{-1}	A	AE		
+ 50 g Ca-lignin sulphonate kg^{-1}			A	AE
+ 50 g S-free lignin[3)] kg^{-1}			L	LE

[1)] Allzyme cellulase, Alltech Inc. Kentucky, USA

[2)] Lignobond, Attisholz AG, Gerlafingen, CH

[3)] Alcell, Repap Inc. Pennsylvania, USA

The experiments were carried out in a latin square design with 12 growing individually kept pigs over the range of 22 to 105 kg liveweight. Digestibility of energy was measured with the indicator method (HCl – insoluble ash as the indicator).

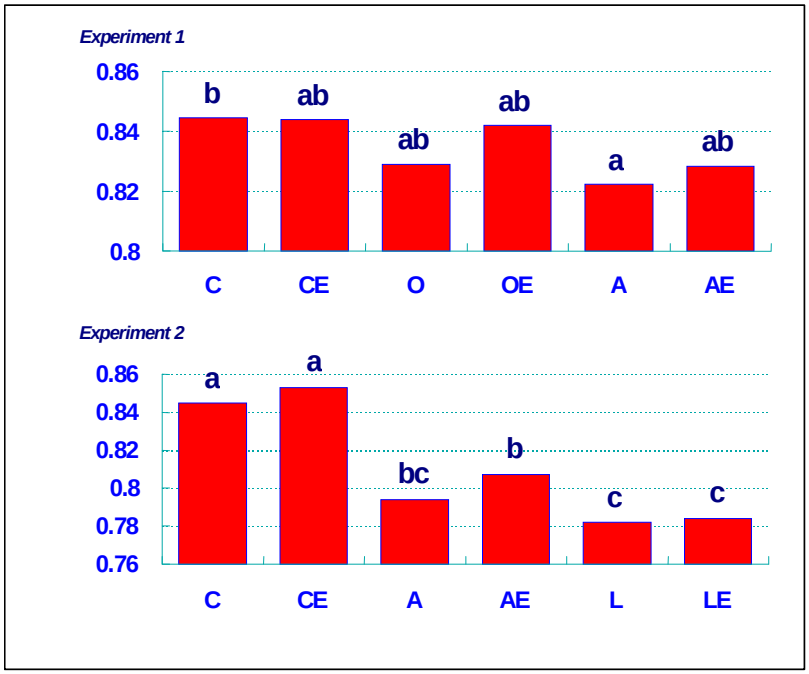


Figure 8: Coefficient of digestibility of gross energy in growing pigs fed diets with different lignin sources and a carbohydrase enzyme.

As shown in Fig. 8, the supplementation of the control diet with the three lignin sources in all cases (except oak bark powder) caused a significant decrease in the digestibility of energy. The most serious reduction was found for the sulphate-free lignin. From these experiments and from the earlier observations, it can be concluded that lignin causes a significant reduction of the digestion processes if it is present in the DF as sorghum hulls and oak bark powder as well as in the free form of Ca-lignin sulphonate or S-free lignin, two products which are used as pelleting agents in the feed industry. The supplementation of the control diets with the carbohydrase enzyme had no significant effect on the digestibility of energy.

Conclusions

DF is an integral part of all feedstuffs of plant origin for monogastric farm animals. DF has specific effects on all digestive processes of the pig and also indirectly on the intermediate metabolism. Long-term feeding of high levels of DF can alter the anatomical and physiological characteristics of the digestive tract of pigs. Soluble DF increase ileal and post-ileal microbial fermentation and a considerable amount of short chain fatty acids will be produced and absorbed. These absorbed short chain fatty acids can also have specific effects on the intermediate metabolism.

The level, source and composition of DF can therefore be considered as important factors influencing the occurrence as well as the rate of different mechanisms of feed digestion in pigs. The effects of DF on feed digestion and nutrient absorption can be highly influenced by the physico-chemical properties of fibre. Therefore just looking at the total DF level will not give a clear picture of its influence on the digestive physiology of pigs.

References

Awati, A. 2005. Prebiotics in piglet nutrition? Fermentation kinetics along the GI tract. PhD thesis, Animal Nutrition Group, Wageningen Institute of Animal Sciences, Wagenignen University and Research Centre, Wageningen, The Netherlands.

Bach Knudsen, K. E., 1991. Breakdown of plant polysaccharides in the gastrointestinal tract of pigs. In: M. W. A. Verstegen, J. Huisman and L. A. den Hartog (Eds.). Digestive physiology in pigs. Proc. Vth Int. Symp. Digestive physiology in pigs, 24-26 April 1991, Wageningen, Netherlands. pp 428-433.

Bach Knudsen, K. E. and B. B. Jensen, 1991. Effect of source and level of dietary fibre on microbial fermentation in the large intestine of pigs. In: M. W. A. Verstegen, J. Huisman and L. A. den Hartog (Eds.). Digestive physiology in pigs. Proc. Vth Int. Symp. Digestive physiology in pigs, 24 – 26 April 1991, Wageningen, Netherlands. pp 389-393.

Blaut, M., 2002. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. In: Eur. J. Nutr. 41 (Suppl. 1) : I/11-I/16.

Bühler, K., 2006. Workshop summary. In: C. Wenk & O. Simon (Eds). Sustainable Animal Health through Eubiosis - Relevance for Man. International Conference, 8.-13.October 2006, Centro Stefano Franscini, Ascona, Switzerland, CD-ROM, 4 pages.

Drochner, W., 1991. Digestion of carbohydrates in the pig. In: Verstegen, M.W.A., J. Huisman and L.A. den Hartog (Editors), Digestive physiology in pigs. Proceedings of the Vth International Symposium on Digestive Physiology in Pigs, Wageningen, Netherlands, 24-26 April 1991 (EAAP Publication No. 54, 1991), Pudoc Wageningen. pp. 367-388.

Drochner, W. and M. Coenen, 1986. Pflanzliche Strukturstoffe in der Schweineernährung. Übers. Tierernährg. 14: 1-50.

Fernández, J. A., H. Jørgensen and A. Just, 1986. Comparative digestibility experiments with growing pigs and adult sows. Anim. Prod. 43: 127-132.

Gaskins, H.R.; 2001. Intestinal bacteria and their influence on swine growth. In: A.J. Lewis and L.L. Southern (Ed). Swine Nutrition. CRC Press, New York. 585-608.

Gdala, J., Graham, H., Buraczewska, L. and P. Aman, 1991. Ileal and faecal digestibility of polysaccharides in pigs fed diets with different varieties of pea. In: M. W. A. Verstegen, J. Huisman and L. A. den Hartog (Eds.). Digestive physiology in pigs. Proc. Vth Int. Symp. Digestive physiology in pigs, 24-26 April 1991, Wageningen, The Netherlands. pp 447-451.

Gibson, G.R. and M. B. Roberfroid, 1995. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. J. Nutr., 125: 1401-1412

Gibson, G.R., Probert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A. and Marcel B. Roberfroid, 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating bthe concept of prebiotics, Nutrition Research Reviews, 17: 259–275

Henry, Y., 1971. Essai de prévision de la valeur en énergie digestible des aliments pour le porc à partir de leur teneur en constituants membranaires. Journées Rech. Porcine en France, 9: 57-64

Henneberg, W. and F. Strohmann. 1860. Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer. Praktisch-landwirthschaftliche und physiologische Untersuchungen. Heft 1 u. 2, Braunschweig 1860 u. 1864

Högberg, A., Lindberg, J.E., Leser, T., and P. Wallgren, 2004. Influence of cereal non-starch polysaccharides on ileo-caecal and rectal microbial populations in growing pigs. In: Acta vet. scand. 45: 87-98

Jin, L., L. P. Reynolds, D. A. Redmer, J. S. Caton and J. D. Crenshaw, 1994. Effects of dietary fibre on intestinal growth, cell proliferation, and morphology in growing pigs. J. Anim. Sci., 72: 2270-2278.

Johansen, H. N., Knudsen, K. E. B., Sandstrom, B. and F. Skjoth, 1996. Effects of varying content of soluble dietary fibre from wheat flour and oat milling fractions on gastric emptying in pigs. Br. J. Nutr. 75: 339-351.

Jørgensen H., and A. Just, 1988. Effect of different dietary components on site of absorption / site of disappearance of nutrients. In: Buraczewska, L., Buraczewski, S., Pastuszweska, B., Zebrowska, T. (Editors) Digestive Physiology in the pig. Proceedings of the 4th International Seminar at the Institute of Animal Physiology and Nutrition, Jablonna, Poland: 230-239.

Jørgensen, H., Zhao, X.-Q. and B. O. Eggum, 1996. The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs. Br. J. Nutr. 75: 365-378.

Konstantinov, S.R., Awati, A., Smidt, H., Williams, B.,A., Akkermans, A.D.L. and W.M. de Vos, 2004. Specific response of a novel and abundant *Lactobacillus amylovorus*-like phylotype to dietary prebiotics in the guts of weaning piglets. In: Applied and environmental microbiology, 70: 3821-3830.

Langhans, W., 1999. Appetite Regulation. In: Lobley, G.E., White, A. and J.C. MacRae, (Eds.) Protein metabolism and nutrition, EAAP Publication No 96, Wageningen Pers (1999) 225-252.

Low, A. G., 1993. Role of dietary fibre in pig diets. In: D. J. A. Cole and W. Haresign (Eds.). Recent developments in pig nutrition–2. Loughborough, UK. Nottingham University Press. pp 137-162.

Michel, P. and A. Rerat, 1998. Effect of adding sugarbeet fibre and wheat bran to a starch diet on the absorption of glucose, amino nitrogen and volatile fatty acids in the pig. Repro. Nutr. Dev. 38: 49-68.

Mosenthin, R., W.C. Sauer and F. Ahrens, 1994. Dietary pectin: effect on ileal and fecal amino acid digestibility and exocrine pancreatic secretion in growing pigs. J. Nutr. 124: 1222-1229.

Müller, HL. and M. Kirchgessner, 1985. Energetische Verwertung von Pektin bei Sauen. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde 54: 14-20.

Noblet, J. and K. E. Bach Knudsen, 1991. Comparative digestibility of wheat, maize and sugar beet pulp non-starch polysaccharides in adult sows and growing pigs. In: J. P. Laplace, C. Fevrier and A. Barbeau (Eds.). Digestive physiology in pigs. Proc. VIIth Int. Symp. Digestive physiology in pigs. EAAP Publication No. 88, pp. 571-574.

Noblet, J. and J. M. Perez, 1993. Prediction of digestibility of nutrients and energy of pig diets from chemical analysis. J. Anim. Sci. 71: 3389-3398.

Rainbird, A. L., Low, A. G. and T. Zebrowska, 1984. Effect of guar gum on glucose and water absorption from isolated loops of jejunum in conscious growing pigs. Br. J. Nutr. 52: 489-498.

Rijnen, M.M.J.A., Heetkamp, J.W., Verstegen, M.W.A. and J.W. Schrama, 1999. Effects of dietary fermentable carbohydrates on physical activity and energy metabolism in group-housed sows. Proc. ASAS Meeting, 182.

Roth, F.X., Jahn, B.M. and W. Schönberger, 2003. Essential amino acid requirements for maintenance in adult sows. In: W.B. Souffrant, and C.C. Metges (Hrsg.) Progress in research on energy and protein metabolism. EAAP Publication No. 109. Wageningen Academic Pubishers, Wageningen, pp 717-720.

Schulz, E., J. Noll and H. J. Oslage, 1998. Investigations on the digestion of carbohydrates in the different parts of the intestine in pigs. In: L. Buraczewska, S Buraczewski, B. Pastuszewska and T. Zebrowska (Eds.). Digestive physiology in the pig. Proc. 4th Int. Seminar. Jablonna, Poland. pp. 196-202.

Smits, C. H. M., Veen, W. A. G., Borggreve, G. J. and J. J. Heeres-Van der Tol, 1991. In: M. W. A. Verstegen, J. Huisman and L. A. den Hartog (Eds.). Digestive physiology in pigs. Proc. Vth Int. Symp. Digestive physiology in pigs, 24 – 26 April 1991, Wageningen, The Netherlands. pp 471-476.

Southgate, D.A.T., 1993. Food components associated with dietary fiber. In: G.A. Spiller (Ed.). Dietary Fiber in Human Nutrition, CRC Press, Boca Raton, FL, 27

Thaer, A., 1880. Grundsätze der rationellen Landwirthschaft - Neue Aufl. / durch Guido Krafft, C. Lehmann etc. – Berlin.

Van der Meulen, J. and J.G.M. Bakker, 1991. Effect of various sources of dietary fibre on chemico-physical characteristics of digesta in the stomach and the small intestine of the pig. In: M. W. A. Verstegen, J. Huisman and L. A. den Hartog (Eds.). Digestive physiology in pigs. Proc. Vth Int. Symp. Digestive physiology in pigs, 24–26 April 1991, Wageningen, The Netherlands. pp 440-445.

Wenk, C., 1980. Zur Verwertung der Energie beim wachsenden, monogastrischen, landwirtschaftlichen Nutztier, Habilitationsschrift, ETH Zürich.

Wenk, C., 1992. Enzymes in the Nutrition of Monogastric Farm Animals. In: Lyons,T.P.(Hrsg.) Proc.8th Alltech Ann. Symp. Biotechnology in the Feed Industry, 205-218.

Wenk, C., Messikommer, R. and G. Bee, 1998. Effect of lignin form different origins in combination with carbohydrases in pig diets on digestion processes. J. Animal Science Suppl. 76: 179.

Wenk, C., Pfirter H.P., Halter, H., Stoll, P. and R. Messikommer, 1980. Nährwert von Maispflanzen und von unterschiedlich konservierten Maiskolben bei Mastschweinen. Proc 31th Ann Meeting EAAP, München, 1-4 September. 1-7.

Wenk, C. and U. Zürcher, 1990. Energetische Verwertung nahrungsfaserreicher Nebenprodukte aus der Müllerei- und Nahrungsmittelindustrie beim Schwein. Arch. Anim. Nutr., 40: 423-430.

Zebrowska, T., Low, A.G. and H. Zebrowska, 1983, Studies on gastric digestion of protein and carbohydrate, gastric secretion and exocrine pancreatic in the growing pig. Br. J. Nutr. 49: 401-410.

Autorenanschrift

Prof. Dr. Caspar Wenk
ETH Zürich
Institut für Nutztierwissenschaften
Ernährungsbiologie
Universitätstr. 2, LFW B 57, CH-8092 Zürich, Schweiz
e-mail: caspar.wenk@inw.agrl.ethz.ch

Zur Bedeutung der Nahrungsfaser für Entwicklung und Funktion des Verdauungstraktes beim Wiederkäuer

Manfred Stangassinger

Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München

Sowohl in der freien Natur wie auch unter landwirtschaftlichen Produktionsbedingungen profitieren Wiederkäuer von ihren Fähigkeiten pflanzliche Kohlenhydrate umfassend energetisch verwerten zu können. Diese Nährstoffgruppe repräsentiert nicht nur die am reichlichsten verfügbare sondern auch die am besten erneuerbare Kohlenstoff (C)- Quelle auf der Erde. So befindet sich von dem durch Photosynthese fixierten C annähernd die Hälfte in Strukturkohlenhydraten von Pflanzen-Zellwänden, die ihrerseits wiederum in Abhängigkeit von der Pflanzenart und dem Reifegrad 25 - 80 % der Trockenmasse einer Futterpflanze ausmachen können.

Trotz dieses Überflusses fehlen Säugetieren die geeigneten körpereigenen Enzyme, um pflanzliche Strukturkohlenhydrate für die weitere energetische Verwertung im Verdauungstrakt abzubauen. Andererseits ist der fermentative Ab- und Umbau von Zellwandmaterial eine der wichtigsten Aufgaben von Mikroorganismen für unsere Umwelt.

Vor dem Hintergrund dieser beiden Gegebenheiten haben sich im Laufe der Evolution bei Herbivoren, die rund 90 % der Säugetierbiomasse stellen, sehr spezifische digestive und folglich auch metabolische Anpassungen ergeben, um mit Futterpflanzen als Nahrungsquelle energetisch effizient zurecht zu kommen.

Während die Nährstoffe (Kohlenhydrate, Proteine, Lipide) des Zellinhaltes von Pflanzen allen Säugetier-Spezies uneingeschränkt verfügbar sind, wurden die mengenmäßig wichtigsten Kohlenhydrate (Cellulose und Hemicellulose) der Zellwände nur denjenigen Tieren verfügbar, welche die permanente Ansiedelung einer umfangreichen und komplex zusammengesetzten Mikroflora in ihrem Verdauungstrakt ermöglichten.

So gingen einige Herbivore dazu über, selektiv spezielle (generative und vegetative) Pflanzenteile wegen ihres reichlichen und leicht verfügbaren Zellinhaltes zu konsumieren und die unerwünschten, aber gleichzeitig mitverzehrten Zellwandbestandteile relativ rasch durch den vorderen und mittleren Abschnitt des Verdauungstraktes zu schleusen.

Die alternative Anpassung besteht darin, unselektiert die ganze Pflanze zu konsumieren und die reichlich mitverzehrte Zellwand im Verdauungstrakt für die mikrobielle Fermentation zurückzuhalten, um so insgesamt gesehen ebenfalls einen maximalen Energieertrag aus pflanzlicher Nahrung zu erzielen.

Die Nahrungsfaser als diskriminierender Faktor in der Evolution der Wiederkäuer

Vor rund 30 Mio. Jahren (im Miozän) fand klimatisch bedingt, weltweit eine rasche und umfangreiche Zunahme der Strukturkohlenhydrat-reichen Gräser statt. Heute haben Dauerwiesen und Dauerweiden weltweit mit etwa 3 Mrd. ha einen 2/3 – Anteil an der für das Futterpotential verfügbaren Fläche. Auf Grund dieser nachhaltigen Veränderung im Bereich der Futterpflanzen wurden im Laufe der Evolution bei Herbivoren weitere, differenziertere, maßgeblich von der Körpergröße beeinflusste Verdauungs-Strategien wichtig, um mit dieser zellwandreichen, schwer verdaulichen Futtergrundlage überleben zu können.

So gelang es einerseits den Equiden u. a. großen Pflanzenfressern (Rhinozeros, Elefant) die Aufnahme von Gräsern durch die gleichzeitige Erhöhung der Digesta - Passagerate im vorderen und mittleren Bereich des Verdauungstraktes zu steigern. Trotz dieser gesteigerten Passage großer Mengen von zunächst unverdauten Zellwandbestandteilen erhalten sie ausreichend Nährstoffe über die leicht und deshalb auch rasch verdaubaren Nährstoffe aus dem Zellinhalt von Gräsern. Mit der gleichzeitigen erheblichen Volumenzunahme und Kammerung des Caecums und des proximalen Colons (beides ist als funktionelle Einheit zu betrachten) war für die rasch anflutenden, noch unverdauten Zellwandbestandteile eine deutliche Verlangsamung des Flusses mit der gleichzeitigen Möglichkeit eines substantiellen fermentativen Abbaues durch die reichlich angesiedelten Mikroorganismen möglich geworden.

Kleine herbivore Spezies (<10 kg LM) konnten auf Grund ihrer geringen Körpergröße und des gleichzeitig vergleichsweise hohen Energiebedarfes ihr Colonvolumen nicht deutlich vergrößern, um den unverdaulichen Teil des Speisebreis deutlich zu verlangsamen und einen nachgeschalteten substantiellen mikrobiellen Abbau zu ermöglichen.

Sie konnten aber bereits selektiv erheblich zerkleinerte Futterpartikel in einem relativ großen gekammerten Caecum für eine effiziente Fermentation zurückhalten.

Mit Hilfe der Koprophagie bzw. Caecotrophie mikrobenreicher Faeces bzw. des Blinddarminhaltes wurde es einigen kleinen Herbivoren möglich, neben der Energie- auch die Protein- und Vitaminversorgung deutlich zu verbessern.

Die Wiederkäuer konnten bei der steigenden Verfügbarkeit von Gräsern als Futtergrundlage wegen des bereits vorhandenen Vormagensystems und dabei insbesondere der Funktion der Hauben/Psalter-Öffnung, die nur die Passage von erheblich zerkleinerten Futterstückchen zulässt, sich nicht in gleicher, bereits geschilderter Weise evolutionär weiterentwickeln. Sie mussten entweder weiterhin "Pflücker" oder „Selektierer" von hoch verdaulichen Pflanzenteilen bleiben, oder sie mussten als optimale „Rauhfutter-Fresser" ihren gesamten vorderen Abschnitt des Verdauungstraktes (Lippen, Unterkiefer-Zahnbogen, Zunge, Volumen und Kammerung von Pansen, Haube und Psalter) der neuen, schwer verdaulichen Futtergrundlage anpassen.

Heute lassen sich die 176 weltweit existierenden Wiederkäuerarten nach ihrem evolutionären Entwicklungsverlauf in drei sich überlappende Ernährungstypen einteilen (Hofmann, 1989):

a) Die noch vor der Ausbreitung der Gräser entstandenen „Selektierer" (40 % aller Wiederkäuerarten), die besonders nährstoffreiche, leichtverdauliche Pflanzenteile selektieren und faserreiche Pflanzen meiden;

b) Die besonders bei den Boviden mit den Gräsern „explosionsartig" zunehmenden „Rauhfutterfresser" (25 % aller Wiederkäuerarten), die überwiegend einkeimblättrige Pflanzen aufnehmen und deren Zellwände v. a. im Pansen mikrobiell fermentativ aufschließen;

c) Die flexible Gruppe der „Intermediärtypen" (35 % aller Wiederkäuerarten), die sich je nach Qualität und Verfügbarkeit der selektierten Nahrungspflanzen dem einen (a) oder anderen (b) Extremtyp annähern, dabei aber faserreiche Teile stärker meiden als „Rauhfutterfresser".

Das Nahrungspflanzen-Spektrum von Tieren der Gruppen (a) und (c) ist stets erheblich größer als das von Gruppe (b). Während sich „Rauhfutterfresser" überwiegend aus der Bodenvegetation ernähren, bedienen sich (a)- und (b)-Wiederkäuer zur Futteraufnahme häufig in der Strauch- oder Baumschicht.

Diese evolutionäre Aufsplittung bzw. Einnischung der Wiederkäuer in drei Haupternährungstypen haben in allen Klimazonen der Erde zu einer ökologisch kompatiblen Nutzung der vorhandenen pflanzlichen Primärproduktion geführt. Sie muss aber auch bei der vom Menschen initiierten und getragenen Fütterung von Haus- und Wildwiederkäuern stärker als bisher berücksichtigt werden, nicht zuletzt auch aus Tierschutzgründen.

Hierzu muss man wissen, dass von den „klassischen" Hauswiederkäuern die Ziege zum „Intermediär-Typ" mit jahreszeitlicher Tendenz zum Strauchblatt fressenden „Selektierer" gehört. Das Schaf ist ein selektiver „Grasfresser" und das Rind ein zeitweise nichtselektiver „Rauhfutterfresser". Aus der Gruppe der „Selektierer" wurde bisher keine Art domestiziert.

Wahrscheinlich war es eher die physikalische Struktur der Zellwände von Gräsern und weniger deren spezifische Kohlenhydrat-Zusammensetzung (hohe Hemicellulose- und Cellulosegehalte) auf Grund dessen sich der „Rauhfutterfresser" als „neuer" Wiederkäuertyp entwickelt hatte. Belege dafür sind die zahlreichen anatomischen und funktionell sinnvollen Anpassungen, welche im Laufe von Jahrmillionen stattgefunden haben.

So wird z.B. Gras bei den während des Fressens schlecht kauenden „Rauhfutterfressern" in Form von länglichen fasrigen Gebilden in den Pansen aufgenommen, um dort zunächst eine schwimmende „Fasermatte" zu bilden, welche für die typische Schichtung des Panseninhaltes verantwortlich ist (van Soest, 1982). Erst nach intensivem Wiederkauen können die dabei zerkleinerten Faserbestandteile nicht mehr in dieser Matte zurückgehalten werden. Sie sinken als kleine dichtere Partikel auf den Grund des Pansens. Von dort werden sie schließlich in die nächsten Abschnitte des Vormagensystems abgetrieben. Dieser Vorgang beansprucht Zeit, was wiederum erklärt, warum kleine Partikel im Pansen deutlich länger zurückgehalten werden als die Pansenflüssigkeit und er stellt gleichzeitig sicher, dass nur kleine Partikel den Pansen von „Raufutterfressern" über die Hauben/Psalter-Öffnung verlassen können.

Da über der Fasermatte beständig eine solide Gasschicht existiert, in der keine Fermentation stattfinden kann, bildet der dorsale Teil des Pansens keine der im Pansensee-Bereich funktional besonders wichtigen Epithelzotten aus. Die Pansenwand ist darüber hinaus ausgestattet mit starken Pansenpfeilern und einer dicken Muskelschicht, die ein entsprechendes Handling der „Fasermatte" ermöglichen.

Demgegenüber wird Blattmaterial im Futter von „Selektierern" bereits bei der Futteraufnahme in kleine polygonale Partikel zerlegt, die keine „Fasermatte" bilden können und demnach auch keine Schichtung des Panseninhaltes zulassen, was wiederum die Bildung einer soliden Gasblase verhindert, aber eine schnellere Passage auch von Zellwandpartikeln aus dem Pansen zulässt. Die Konsequenz ist eine bei „Selektierern" ausgeprägte fraktionierte Faser-Fermentation, und zwar in Pansen und Dickdarm.

Zur Bedeutung der Nahrungsfaser während der postnatalen funktionalen Entwicklung der Vormägen

Die postnatale Entwicklung vom funktional monogastrischen „Säugling" zum funktional polygastrischen Wiederkäuer erfordert eine Vielzahl anatomischer und physiologischer Veränderungen im ursprünglich rudimentären Vormagensystem, für deren Einleitung neben dem Alter, dem Zeitpunkt der Entwöhnung von der reinen Milchnahrung und der Intensität einer Trockenmasse-reichen Fütterung insbesondere auch die Qualität (physikalische Eigenschaften u. Zusammensetzung der Kohlenhydrat-Fraktion) dieses Futters maßgeblich sind.

So sind z. B. die Größenentwicklung des Vormagensystems und das Wachstum der Pansenepithel-Zotten trotz fortschreitendem Alters bei fortgesetzter ausschließlicher Milchfütterung minimal (Tamate et al. 1962). Aber bereits der gleichzeitige Zugang dieser Tiere zu Einstreumaterial (z.B. Sägemehl) stimuliert die morphologische und funktionelle Entwicklung im Vormagensystem deutlich. Diese Stimulation erfolgt zwar auch bei ausschließlich physikalisch wirksamem aber sonst inertem Material (z.B. Kunststoffschwämme), aber nicht so ausgeprägt wie bei Zugang zu strukturiertem fermentierbarem Futtermaterial (Harrison et al. 1960).

Es ist die Dicke des Vormagenepithels und dabei insbesondere auch Größe und Gestalt der Zotten, die nicht nur von der Struktur des Futters sondern auch von dessen spezifischen Fermentationsprodukten (Buttersäure, Propionsäure) beeinflusst werden (Sander et al. 1959). Dieser stimulierende Effekt bestimmter kurzkettiger Fettsäuren lässt vermuten, dass ein kausaler Zusammenhang besteht zwischen anatomischer und funktionaler Vormagenentwicklung und der mikrobiellen Aktivität im Pansen, die ihrerseits weniger von der Struktur des Futters sondern mehr von der Qualität der darin enthaltenen Kohlenhydrate beeinflusst wird (Van Houtert, 1993).

Ruminaler Abbau von pflanzlichen Struktur-Kohlenhydraten

Der Zellwandabbau im Vormagensystem erfolgt als komplexes digestives und metabolisches Gemeinschaftswerk von einem kleinen Teil der ruminalen Gesamtpopulation an Bakterien, Pilzen und Protozoen, und zwar in Verbindung mit mechanischen Einwirkungen (z.B. technische Futterbearbeitung, Kauvorgang).

Als wichtige Endprodukte dieses Prozesses der Verdauung und des untrennbar damit verbundenen nachfolgenden Prozesses der mikrobiellen Energietransformation aus monomeren Spaltprodukten werden u. a. kurzkettige Fettsäuren, (wobei die Essigsäure stets mengenmäßig dominiert) gebildet.

Nicht unerhebliche Energie- (mikrobielles ATP, Methan) und Wärme-Verluste sind jedoch nicht zu verhindern. Dies ist hauptsächlich darauf zurückzuführen, dass der Abbau komplexer Polysaccharide über die kooperativen und synergistischen Bemühungen einer Reihe von cellulolytischen und nicht-cellulolytischen Mikroorganismen erfolgt.

Die wichtigsten cellulolytischen Bakterien sind Ruminococcus albus, Ruminococcus flavefaciens und Fibrobacter succinogenes, die nur 0,3 - 4 % der Bakterienspezies im Pansen ausmachen. Pilze stellen ~ 8 % der mikrobiellen Biomasse, aber nur ein Teil davon produziert hochaktive Cellulasen und Hemicellulasen. Eine begrenzte Zahl von Protozoen- Spezies spielen ebenfalls eine wichtige Rolle bei der ruminalen Zellwandverdauung. Je nach Ration können sie 5 - 21 % der Cellulose verdauen (Forsberg et al. 2000). Die wichtigste Limitation bei der Cellulose-Verdauung ist die verfügbare Angriffsfläche der mechanisch zerstörten Pflanzenstruktur und weniger die insgesamt ruminal verfügbare mikrobielle Cellulase-Aktivität (Dehority & Tirabasso, 1998). Durch Lockerung des Ligno-Cellulose-Komplexes mittels eines Multienzym-Komplexes (Cellulosom) zusammen mit dem Wiederkauen wird die Überführung der Cellulose von der kristallinen in eine amorphe Form begünstigt (Bayer et al. 1998), so dass bessere Haftbedingungen für die Bindungsproteine der mikrobiellen Spaltflora entstehen (Forsberg et al. 2000). Die dann folgende digestive Spaltung und gleichzeitige metabolische Transformation von Zellwand-Polysacchariden in „neue" Nährstoffe (kurzkettige Fettsäuren) erfordert die streng sequentiell angeordnete Aktivität einer Vielzahl von mikrobiellen Enzymen.

Aus Cellulose entstehen so zunächst Oligosaccharide, dann Cellobiose und schließlich Glucose. Aus Hemicellulose entstehen zunächst Xylose und andere Pentosen und schließlich über eine weitere Serie sequentieller enzymatischer Schritte Fructose und Triosen. Pectine wurden zunächst zu Pectin- und Galacturonsäure und nachfolgend ebenfalls über Xylose zu Fructose und Triosen abgebaut. Alle so entstandenen Kohlenhydrat-Monomere werden schließlich nach intrazellulärer mikrobieller Aufnahme über den Emden-Meyerhof-Parnas-Stoffwechselweg zu Pyruvat abgebaut, wobei anzumerken ist, dass Pyruvat selbst kein Hauptendprodukt des Polysaccharid-Abbaus darstellt.

Die oben erwähnten wichtigen cellulolytischen Bakterien z. B. produzieren als Endprodukte dieser metabolischen enzymatischen Sequenz Succinat, Lactat, Wasserstoff und Formiat sowie die kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat. Für alle diese Endprodukte ist Pyruvat lediglich ein wichtiges Zwischenprodukt.

Die Nicht-Fettsäuren-Endprodukte (H_2, CO_2) aber auch einige organische Säuren (Succinat, Lactat, Formiat) werden schließlich als Substrate für andere Bakterien Verwendung finden und ebenfalls zu Acetat, Propinat und Butyrat und/oder zu Methan als deren eigentliche Stoffwechselendprodukte umgebaut werden. Die quantitative Relation der so insgesamt produzierten kurzkettigen Fettsäuren (Acetat: Propionat: Butyrat) wird ganz wesentlich durch Bedingungen im Pansen bestimmt, welche die Aktivität einzelner Gruppen von Mikroorganismen entweder fördern oder beeinträchtigen. Zu diesen ruminalen Bedingungen zählen der pH-Wert, der NAD^+ - bzw. NADH-Gehalt, der Substrat-Druck und die Digesta -Umsatzrate.

Niedrige Futteraufnahmen und niedrige Fermentationsraten mit einem Pansen-pH von 6,5 – 7,0 sind üblich bei der Fütterung von Zellwand-reichen Rationen. Dies spiegelt sich in einer relativ geringen C-Flussrate von Kohlenhydraten zu Pyruvat wieder, was wiederum die Aufrechterhaltung eines relativ hohen NAD^+/NADH-Quotienten im Pansen unterstützt. Dies wiederum reduziert den C-Fluss durch Reduktionsäquivalente (NADH) - aufnehmende Stoffwechselwege, wie dem der Propionat-Bildung.

Als Konsequenz der über Zellwand-reiches Futter gegebenen reichlichen, spezifischen Kohlenhydrat-Verfügbarkeit (Cellulose, Hemicellulose), der dabei niedrigen Panseninhalts-Umsatzrate und des gegebenen hohen NAD^+/NADH-Quotienten proliferieren Bakterienspezies, welche Kohlenhydrate zu Acetat umbauen, und zwar auf Kosten der mikrobiellen Propionat-Bildner (Sutherland, 1977).

CO_2, H_2 und Formiat sind die drei Hauptvorstufen für die Bildung des mikrobiellen Endproduktes Methan im Pansen. Da die Methan–bildenen Mikroorganismen mit den Propionat-Bildnern um den vorhandenen H_2 konkurrieren, ist es verständlich, dass zwischen Methan-Bildung und Propionat–Produktion im Pansen eine negative Beziehung existiert (Peters et al. 1989) und die Unterdrückung der Methan-Bildung die Propionat-Bildung fördern kann.

Da Methan-Bildner langsam wachsend sind und dadurch besonders bei reichlich Rauhfutter in der Ration mit der dann gegebenen langsamen ruminalen Digesta-Umsatzrate proliferieren (Preston 1972), ist es auch verständlich, dass insbesondere Strukturkohlenhydrat-reiche Rationen, die mit einer vergleichsweise niedrigen Propionatbildung einhergehen, die Methanproduktion begünstigen können.

Dass der Beitrag des Pansens am weltweiten Kohlenstoff-Recycling aus Struktur-Kohlenhydraten (geschätzte jährliche terrestrische Cellulose-Snythese: 40 Mrd. t) nicht unerheblich ist, zeigen Modellrechnungen von Flachowsky et al. (2003). Bei einem angenommenen globalen Pansenvolumen von 150 Mio. m^3 und einem mittleren Gehalt von 35 % Zellwänden in der Trockenmasse einer Wiederkäuer-Ration gelangen jährlich ca. 3 Mrd. t Zellwände in den Pansen. Diese Menge entspricht ca. dem 1,5 fachen der Weltgetreide-Ernte und ist mit etwa 80 % der jährlichen Welterdölförderung vergleichbar.

Da die Futtermittel wild lebender Wiederkäuer meist stark lignifiziert sind, wird die mittlere weltweite ruminale Zellwandverdaulichkeit nicht über 50 % betragen (von Soest, 1994). Die im Pansen dabei weltweit erzeugten Mengen an kurzkettigen Fettsäuren dürften demnach unter 1 Mrd. t pro Jahr liegen. Die starke Lignifizierung der Zellwände und die dadurch bedingte geringe Verdaulichkeit reichlich verfügbarer aber geringwertiger Grundfuttermittel (z.B. Getreide - Stroh, zu 35 – 45 % verdaulich) führten zu erfolgreichen Bemühungen durch Vorbehandlung mit Chemikalien (z.B. NaOH, $NH_{3;}$ Flachowsky, 1987) oder mit Speisepilzen (Zadrazil et al. 2001) deren Futterwert über eine erleichterte Verdauung für den Wiederkäuer zu erhöhen.

Zur nutritiven Bedeutung von Nahrungsfaser für Milchkühe

Wie im vorausgehenden Kapitel ausführlich dargelegt, modifiziert die symbiotisch tätige Mikroflora des Pansens die metabolische Verfügbarkeit von Nährstoffen fürs Tier und damit auch dessen produktive Leistungsfähigkeit in Abhängigkeit von der Kohlenhydrat-Verfügbarkeit in der gefütterten Ration erheblich. D.h., die Ausgewogenheit einer Futter-Ration insbesondere für Milchkühe muss neben den Bedürfnissen des Tieres auch die Bedürfnisse der Mikroflora im Pansen berücksichtigen. Nun sind aber Zellwände von Futterpflanzen chemisch, physikalisch und damit auch nutritiv gesehen kein einheitliches Material, was dem Ganzen noch eine weitere wichtige Dimension an Komplexität verleiht.

Denn in Abhängigkeit von Reifegrad und der Pflanzenart bestehen ca. 25 - 80 % der Trockenmasse von Futterpflanzen aus Zellwänden, die chemisch gesehen sich aus variablen Anteilen von Hemicellulose, Pectin, Cellulose und Lignin zusammensetzen, welche z.T. unverdaulich (Lignin) bzw. wenig verdaulich (30 - 60 %) sind und dadurch den Verzehr über eine verlangsamte ruminale Digesta-Passage erheblich beeinträchtigen können.

D.h., Zellwände oder Faserbestandteile einer Ration können demnach auch nutritiv definiert werden, als die langsam verdauliche oder unverdauliche Fraktion eines Futters, die Platz im Verdauungstrakt von Tieren beansprucht (Mertens, 2003). Bei dieser Betrachtungsweise ist es verständlich, dass die Maximierung des Energiegewinns insbesondere aus Zellwänden für eine hohe Effizienz tierischer Produktion eine enorm wichtige Rolle spielt.

Historisch gesehen war der „Rohfaser-Gehalt" die erste brauchbare Größe, um bei Qualitätsermittlung von Futterpflanzen zumindest annähernd die weniger verdauliche Fraktion angeben zu können. Es wurde ersetzt durch die NDF (Neutrale Detergentien Faser)-Bestimmung (Goerge & Van Soest, 1970) welche Pflanzenmaterial in lösliche, zu annähernd 100 % verdauliche Zellkomponenten (Zucker, Proteine, Stärke, Lipide) und in eine unlösliche Fraktion (Gesamt-Faser) trennt, die nur teilweise verdaut werden kann.

Aber trotzdem blieb die Futterfaser einzigartig unter den Futterbestandteilen, denn obwohl es jetzt chemische Techniken gab sie in ihrer Kohlenhydratzusammensetzung quantitativ zu messen, musste sie weiterhin fütterungsbezogen definiert werden, und zwar im Sinne der digestiven und anderer physiologischer Konsequenzen des Faserverzehrs, die jedoch schwer vorauszusagen blieben. D.h., obwohl die monomere Zusammensetzung von Strukturkohlenhydraten genau bestimmbar wurde, ermöglichte dies wenig Information über deren Verfügbarkeit fürs Tier. Offensichtlich hat die physiko-chemische Natur von Faserbestandteilen und die Einbindung von Nichtkohlenhydrat-Komponenten, wie dem Lignin, größere nutritive Bedeutung als seine intrinsische Monosaccharid-Zusammensetzung.

Hinzu kommt, der Parameter NDF erfasst weder die physikalischen Merkmale von Faser, wie die Partikellänge und die Partikeldichte noch deren biologische Effektivität (= „Tierantwort"). Letzteres ist insofern wichtig als diese physikalischen Charakteristika von Zellwänden über die Pansenfermentation und den intermediären Stoffwechsel den Milchfettgehalt aber auch die Tiergesundheit nachhaltig beeinflussen können (Yang & Beauchemin, 2006), und zwar unabhängig von der Menge oder der monomeren Zusammensetzung der chemisch gemessenen NDF-Fraktion.

D.h., Unterschiede in der Menge und den physikalischen Eigenschaften von Faser (= physikalische Effektivität) können die Verwertung einer Ration und die Leistungsbereitschaft von Milchkühen spürbar beeinflussen (Mertens, 1997).

So werden z. B. bei zuviel Faser und dem meistens gleichzeitigen Mangel an leicht fermentierbaren Nicht-Faser-Kohlenhydraten in der Ration die Energiedichte erniedrigt, die Futteraufnahme reduziert und die Produktivität beeinträchtigt.

Bei zuwenig Faser und dem meistens gleichzeitigen Überwiegen von leicht fermentierbaren Nicht-Faserkohlenhydraten in der Ration können eine Vielzahl von Symptomen auftreten. Diese können von einem veränderten Muster an Fermentationssäuren im Pansen bis zur schweren Acidose mit Todesfolge reichen.

Angesichts dieser Bedeutung von Faser ist es unzureichend bei der Formulierung des Faser-Bedarfs von einer fixen Größe auszugehen, denn zahlreiche individuell sehr variable Faktoren wie die Pansengröße, das Verzehrs- und das Produktionsniveau bestimmen letztlich den exakten Bedarf mit (Mertens, 1997). Hinzu kommt als weiterer die Bedarfsermittlung komplizierender Faktor, die Partikellänge von Faser (= physikalische Effektivität, pe; Mertens, 1997), denn Faser ist auch in dieser Hinsicht kein einheitliches Material. Maßgeblich beeinflusst von langen Faserpartikeln werden das Wiederkauen und der Speichelfluss sowie die ruminale Bildung einer schwimmenden „Fasermatte" die als Filtersystem fungiert und eine zu rasche Passage von Partikeln und damit den Verlust von Nährstoffen aus dem Pansen verhindert. (Van Soest et al. 1991).

Gerade bei der Formulierung von Rationen für Hochleistungsmilchkühe hat sich die Berücksichtigung der Faserpartikel- Länge (als physikalisch effektive Faser, peNDF = TM-Rückstand auf einem 1,18 mm Sieb multipliziert mit dem NDF-Gehalt der Ration; Mertens 1997) als nützlich erwiesen, um die subklinische Pansenacidose und die daraus resultierenden Depressionen im Milchfett, in der TM-Aufnahme, der Faserverdauung sowie die Zunahme von Lahmheiten zu verhindern (Yang & Beauchemin, 2006). Darüber hinaus verbessern längere Faserpartikel die mikrobielle Proteinsynthese im Pansen, die Faserverdauung im gesamten Verdauungstrakt sowie die Verdauung von Stärke im Dünndarm (Yang et al. 2002). Insbesondere diese Verlagerung der Stärkeverdauung vom Pansen in den Dünndarm - die Gesamtverdauung von Stärke blieb unbeeinflusst - kann helfen bei hohen Kraftfutteranteilen in der Ration die Entstehung einer Pansenacidose zu verhindern.

Im Zusammenhang mit den bisher gefundenen positiven Effekten der Faserlänge auf die Fasergesamtverdauung und auf die mikrobielle Proteinsynthese im Pansen ließen die bisherigen daraus berechneten signifikanten positiven Korrelationen erwarten, dass nach weiteren ergänzenden experimentellen Bemühungen diesbezüglich der peNDF-Gehalt (s. o) in einer Milchviehration eine

quantitative Vorhersage nicht nur der Faserverdauung sondern auch der mikrobiellen Proteinsynthese zulässt(Yang et al. 2002).

Tatsächlich zeigte sich in zwei neueren Untersuchungen mit Rationen auf der Basis von Gerstenganzpflanzen-Silage (Yang & Beauchemin, 2006 b) bzw. von Mais-Silage (Yang & Beauchemin, 2006 a), dass bei hohen peNDF-Gehalten in der Ration nicht nur die Kauaktivität und der Pansen-pH erhöht wurden, sondern auch die partielle Verschiebung der Stärkeverdauung in den Dünndarm erhalten blieb. Jedoch war überraschenderweise, die ruminale mikrobielle Protein-Synthese unter Verwendung der Gersten-GPS-Ration mit niedrigem peNDF-Gehalt zumindest numerisch höher als bei den Rationen mit mittlerem oder hohem peNDF-Gehalt. Andererseits war mit Mais-Silage die ruminale mikrobielle Proteinsynthese bei der Ration mit mittlerem peNDF-Gehalt höher als bei den Rationen mit niedrigem oder hohem peNDF-Gehalt. D.h., auf der Grundlage dieser Erkenntnisse müsste bei der Rationsgestaltung für Milchkühe der offensichtlich sichere Effekt eines hohen peNDF-Gehaltes in Form der Reduzierung des Pansenacidose-Risikos gegen eine potentielle Verschlechterung der mikrobiellen Proteinsynthese abgewogen werden.

Dass angesichts derartig divergierender Befunde zur nutritiven Bedeutung von physikalisch effektiver Faser eine allgemein gültige Empfehlung zum Bedarf von peNDF für Milchkühe zurzeit immer noch nicht ausgesprochen werden kann, ist verständlich.

Die zitierte Literatur kann beim Autor angefordert werden.

Anschrift des Autors:
Univ.-Prof. Dr. Manfred Stangassinger
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
Veterinärstr. 13
80539 München
e-Mail: m.stangassinger @tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Plant secondary metabolites in ruminant nutrition: potentials and risks

Carla Riccarda Soliva

ETH Zurich

Introduction

Plant secondary metabolites (PSM) are organic compounds that are not directly involved in the plant's metabolism, development or reproduction. They rather are considered as defence mechanisms against pathogens or herbivores, reducing the likelihood and extent of attack. The PSM act in many ways against being consumed by ruminants, including toxicity, reduction of digestibility, modification of the quality of ruminant-source food, and alteration of their foraging behaviour. However, in some cases they can be beneficial. The most common PSM strategically used in ruminant diets are tannins and saponins. Tannins are bitter tasting plant polyphenols that bind and precipitate proteins. They are usually divided into hydrolysable (HT) and condensed tannins (CT). Saponins, glycosides widely distributed in the plant kingdom, include a diverse group of compounds characterized by a structure containing a steroidal or triterpenoid aglycone and one or more sugar chains. Generalisations claim that tannins and saponins are harmful and toxic to ruminants, which is at odds with the fact that humans enjoy tannins in drinks and foods and saponins are believed to be useful in the human diet for controlling cholesterol. Nevertheless, much research was done on the applicability of PSM in ruminant diets not only because of their possible positive effects on animal health, e.g. the anthelmintic effect of CT, and productivity, but also with respect to a positive environmental impact.

Impact of tannins on ruminants

Tannins occur in many feeds such as herbaceous legumes, browse leaves and fruits. While many of the tannin-containing plants originate from tropical and sub-tropical countries (e.g. *Acacia mearnsii, Acacia angustissima, Calliandra calothyrsus*) there are also plants growing in temperate climates containing notable amounts of tannins (e.g. *Onobrychis viciifolia, Lotus corniculatus*). The term tannins comprises very diverse structures from a chemically point of view, but all of them have a protein-binding property. The binding capacity of proteins is the main benefit of tannins in ruminant nutrition (Mueller-Harvey 2006). Feed protein that is bound by tannins is ruminally protected from microbial degradation (Broderick and Albrecht 1997) and therefore the amount of feed protein potentially available for digestion in the small intestine is increasing. Indications are given that tannins further modify rumen microbial population including the methanogens, i.e. the methane generating microbes. This is desired as methane means not only a loss of feed energy to the animal but is also a severe greenhouse gas with a 23-fold higher global warming capacity than carbon dioxide.

In Tab. 1 the effects of tannin containing plants as well as tannin extracts on ruminal protozoa and fermentation traits derived from various *in vitro* and *in vivo* studies carried out by the Animal Nutrition

Group of the ETH Zurich or in close collaboration with them, are listed. When comparing the results of these studies it becomes obvious that no clear concordant effect was found due to the tannin-supplemented diets on the selected parameters. The comparison and the quantification of the effects, e.g. percentage of ammonia decrease, of different tannin containing plants is difficult to perform as the dietary composition, e.g. the protein content, of the treatment as well as of the control diet highly differed between the studies. A clear dose dependent effect of supplementing the same tannin source to ruminant diets on parameters related to the nitrogen turnover was found in the studies of Śliwiński et al (2002a, 2002b) and Hess et al (2006).

Table 1. Impact of supplementing tannin-containing plants or tannin extracts to ruminant diets on methane formation, protein degradation and ruminal ammonia generation (% of the respective control)

Plant species	Source	Dietary amount	Trial type	Methane[a]	Protein degradation[b]	Protozoal counts	Ammonia[c]	Reference
Castanea sativa	HT extract	0.5 g/kg	*in vitro*	88.4	103.7	101.4	83.1	Śliwiński et al 2002a
Castanea sativa	HT extract	2.5 g/kg	*in vitro*	81.4	103.5	79.1	78.7*	Śliwiński et al 2002a
Castanea sativa	HT extract	1 g/kg	*in vivo*	134.8*	99.8	153.5	87.8	Śliwiński et al 2002b
Castanea sativa	HT extract	2 g/kg	*in vivo*	130.2*	97.1	115.3	56.1	Śliwiński et al 2002b
Acacia mearnsii	CT extract	80.5 g/kg	*in vitro*	85.8	60.3*	26.3*	29.7*	Khiaosa-Ard et al u.d.
Acacia mearnsii	CT extract	25.2 g/kg	*in vivo*	96.5	89.4*	121.2	91.3*	Carulla et al 2005
Onobrychis viciifolia	leaf CT	81.2 g/kg	*in vitro*	254.1*	49.7*	89.4	58.1*	Khiaosa-Ard et al u.d.
Acacia angustissima 15132	leaf CT	7.9 g/kg	*in vitro*	79.3	137.2*	53	970*	Zeleke et al u.d.
Samanea saman	leaf CT	6.1 g/kg	*in vitro*	109.3	158.2*	100	1161*	Zeleke et al u.d.
Calliandra calothyrsus 22316 ᴛ	leaf CT	127.3 g/kg	*in vitro*	85.0*†	39.0*	219.7	10.5*	Hess et al 2006
*Calliandra calothyrsus 22316*ω	leaf CT	69.3 g/kg	*in vitro*	90.7†	51.7*	146.2	22.2*	Hess et al 2006

[a] amount related to NDF degraded (*in vitro*) or digested (*in vivo*)

[b] total tract (*in vivo*) or ruminal (*in vitro*)

[c] mmol/l ruminal fluid (*in vivo*) or incubation fluid (*in vitro*)

ᴛ grown in Colombia or (ω) Kenya

† related to OM degraded

CT, condensed tannins; HT, hydrolysable tannins

u.d. unpublished data; * significantly different compared to respective control ($P<0.05$)

In the studies of Zeleke et al (unpublished data) the control treatment consisted of nitrogen limited tropical grass while protein rich tannin-containing leaves were added in the treatments leading to higher ammonia concentration and protein degradation rates compared to the control treatment also because of the better nutritional supply of the ruminal microbes. A rather high decrease in ammonia concentration was found in the *in vitro* study of Khiaosa-Ard et al (unpublished data) in which a CT extract of *A. mearnsii* was added to a basal hay diet, also used as control diet. This decrease in ammonia might have been the result of the strong protozoal-decreasing action of the CT while the decrease in feed protein degradation most probably was based on the formation of tannin-protein complexes which were hardly degradable by the ruminal microbes. When escaping the rumen, the tannin-protein complexes can dissociate at duodenal pH conditions (Butler 1992) and the released protein can be digested by the animal. Free HT, however, could also enhance the endogenous protein loss by binding intestinal enzymes (Butler 1992). When using the same batch of CT extract *in vivo* (Carulla et al 2005), ammonia and total tract protein degradation but not protozoal counts were significantly decreased, which might be explicable by the smaller dosage chosen in the *in vivo* study compared to the *in vitro study*. In the *in vivo* study of Śliwiński et al (2002b) no significant effects were found on ruminal ammonia and protein degradation although ammonia was numerically decreased. Investigating the same amount of CT in leaves of *O. viciifolia* as with *A. mearnsii* also showed a decrease in ammonia concentration, although to a smaller extent, but no effect occurred regarding ruminal protozoa counts (Khiaosa-Ard et al unpublished data). This might indicate that CT extracts are more effective than plant bound CT because of their higher bioavailability. The even higher decrease in protein degradation with *O. viciifolia* might be due to its smaller degradability than the control hay which was also used as basal diet for the *A. mearnsii* supplementation. The highest ammonia decreasing effects (89.5% and 77.8% compared to the control diet with *C. calothyrsus* from cultivation sites in Colombia and Kenya, respectively) were found in the *in vitro* study of Hess et al (2006). In their experiment the low ammonia concentrations were related to an immense decrease in protein degradation and therefore a shortage of nitrogen to the microbes. The differing effects in the studies carried out with the various tannin sources are, beside other factors, explicable with the concomitance of other plant PSM not clearly defined in most studies. In the study of Zeleke et al (unpublished data), e.g. certain accessions (i.e. a pre-commercial form of cultivar) of *S. saman* and *A. angustissima* contained, besides the CT, 11 g and 36 g saponins per kg leaf DM, respectively.

Ruminants offered tanniniferous feeds tend to excrete less urinary nitrogen (Mueller-Harvey 2006). This is important from an environmental point of view as most of the environmentally detrimental ammonia derives from urea excreted in urine. Especially the digestion of high-quality forages is inefficient in ruminants and leads to large losses (20-30% of dietary nitrogen) of ammonia (Givens and Rulquin 2004). The addition of tannin-containing plants or tannin extracts therefore could limit urinary nitrogen loss and improve dietary nitrogen utilisation in the animal whereas faecal nitrogen is considered being environmentally safer. In the study of Carulla et al (2005) a shift in the nitrogen excretory pattern from easily volatile urine to faeces due to tannin supplementation was noted (data not shown). In the same study energy loss via methane, the other major environmental hazard was significantly reduced by 13% when related to feed energy intake. In the study of Śliwiński et al (2002b) neither urinary N content nor methane formation was decreased in sheep (data not shown) but this might be due to the really small amounts of HT extracts added to the diet. In the study of Zeleke et al (unpublished data) only *A. angustissima* 15132 lowered methane formation *in vitro* by a numerical 20.7% but not *Samanea saman* although the dietary CT concentration was similar. The reason for this result might have been the higher saponin concentration in *A. angustissima* compared to *S. saman* (see above). In some of the studies the supplementation of diets with CT extract or CT-containing plants even resulted in an increase in methane formation compared to the control diet. Quite often this increase was accompanied by an increase in protozoal counts which are important hydrogen suppliers for the methanogens. In the study of Hess et al (2006) the supplementation of the

high CT dosage present in *C. calothyrsus* from the Colombian cultivation side to a basal diet resulted in a significant decrease in methane formation while the lower but still high CT dosage present in Kenyan *C. calothyrsus* had no effect. The results found in the study of Hess et al (2006) showed that the forage quality and the tannin content of the same plant species may widely vary between cultivation sites. Makkar and Becker (1998) showed that both tannin levels and activity were higher in African forages compared with those from Himalayan foot-hills as in the African regions (i.e. Niger, Benin and Zimbabwe) climate and especially water availability is lower than in the Himalayan region. Until now the extent to which the environmental factors are responsible for these variations is still unclear. This makes the prediction of the effects of these plants on ruminants' fermentation pattern and performances very difficult.

Impact of saponins on ruminants

Saponins can be found in a large number of plants where they are located in root, tuber, bark, leaves, seed, and fruits. Similar to tannins, many saponin-containing plants originate from tropical and sub-tropical countries (e.g. *Yucca schidigera, Moringa oleifera*). Saponins have been identified in the fruits of several trees such as *Sapindus saponaria, Enterolobium cyclocarpum*, *Pithecelobium saman*, resp. *Albizia saman*. In most studies where saponin-containing plants were used as feed for ruminants only one major structure of saponin or sapogenin is named but mostly there are many more saponin compounds in a single plant. These differently structured saponins are likely to have different biological activities. However, from most plants no defined saponin composition is available and the chemical analyses are time-consuming, expensive, and, at present, not always reliable. Quite often the saponin sources are not used as intact fodder plants but the saponins are extracted and used as feed additives. Saponin extracts commercially available are derived from *Yucca schidigera*, a desert plant, and *Quillaja saponaria*, also called soapbark tree. Recently tea saponins, isolated from tea seeds, are a new commercially available saponin source in China. However, the realization of the full commercial potential of saponins requires the development of new processes/processing strategies to address the challenges posed by their complex nature (Güçlü-Üstandag and Mazza 2007).

In several *in vitro* and *in vivo* studies the effects of saponin supplementation to the diet of ruminants have been shown. Its main positive effect is related with their anti-protozoal activity in the rumen and the modification of ruminal fermentation end products. The suppression of ruminal protozoa is assumed to be positive for the performance of the ruminant, as protozoa negatively affect the animals' nitrogen supply by predating other ruminal microbes. This activity normally results in an increase of ruminal ammonia concentration. A decrease in ruminal protozoal counts, therefore, might increase animals' performance due to an often-found increase in the net efficiency of microbial protein synthesis in the rumen and the associated increased flow of total microbial protein to the duodenum. Methanogens are known to live in close association with ruminal protozoa. Therefore an associated decrease of methane formation with the anti-protozoal activity seems to be consequentially. In Tab. 2 the effects of saponins and saponin-extracts on ruminal protozoa and fermentation traits are presented deriving from various *in vitro* and *in vivo* studies carried out by the Animal Nutrition Group of the ETH Zurich or in close collaboration with them.

Similar as with the tannin supplementation the effects of dietary addition of saponins were variable with respect to the selected parameters. This can be explained by the differing dosages, the different types of saponins used, and the different basal diets, including the respective control diets used in the individual *in vitro* and *in vivo* studies. Surprisingly in most of the studies listed the saponin sources did

not negatively affect protozoal counts, except for the high amounts of *S. saponaria* in the studies of Hess et al (2003a, 2004), while in the study of Abreu et al (2004) *S. saponaria* even increased protozoal counts significantly. An explanation for the latter might be an adaptation process to the saponins as the sheep used were freely browsing native Colombian shrubs prior to the experiment and could have had access to saponin-containing plants. Other possible explanations might be the rather small dietary saponin dosage, and, as the saponin source based on fruits, a higher nutrient supply in form of sugars compared to the control diet. The same might have been true for the significant increase in protozoal counts with *P. saman* and *E. cyclocarpum* (Hess et al 2003a). However, an even higher dosage supply of these fruits to the ruminant diet might change the results but it would exceed the common threshold levels applied by farmers in Central America, which supply their diets with *E. cyclocarpum* and *P. saman* during dry season (Zamora et al. 2001). Adaptation processes of protozoa to saponins are not surprising as Newbold et al. (1997) showed that the anti-protozoal effect of *Sesbania sesban* was overcome in sheep after 9 days of application. In the experiment of Zeleke et al (unpublished data) protozoal counts were, although not significantly, higher with *S. sesban* supplementation than without. This might have been due to the fact that the control used (Brachiaria humidicola, a nitrogen-poor tropical grass) generated a lack of nutrients for the ruminal microbes. Also Wallace et al (2002) suggested adaptation of mixed microbial population in the rumen as one factor contributing to the variability of the anti-protozoal activity of saponins or saponin-containing plants. The results of Hess et al (2003b) suggest that effects of *S. saponaria* on ruminal protozoa could be diet-dependent because protozoal numbers were decreased only when fruits were added to a high-quality legume (*Arachis pintoi*) but not to *Cratylia argentea*.

Table 2. Impact of supplementing saponin-containing plants or saponin extracts to ruminant diets on methane formation, protein degradation and protozoa (% of the respective control)

Plant species	Source	Dietary amount	Trial type	Methane[a]	Protein degradation[b]	Protozoal counts	Ammonia[c]	Reference
Pithecellobium saman	fruits	3.4 g/kg	*in vitro*	149.8*	100.0	154.0*	82.7*	Hess et al 2003a
Enterolobium cyclocarpum	fruits	3.9 g/kg	*in vitro*	146.2*	108.2	154.0*	98.7	Hess et al 2003a
Sapindus saponaria	fruits	12.0 g/kg	*in vitro*	100	100.0	46.0*	101.3	Hess et al 2003a
Sapindus saponaria	fruits	1.2 g/kg	*in vivo*	n.d.	100.7	167.3*	81.1	Abreu et al 2004
Sapindus saponaria	fruits	9.9 g/kg	*in vivo*	94.4	92.3*	36.2*	81.5	Hess et al 2004
Yucca schidigera	sars. extract	1.2 g/kg	*in vitro*	108.2	103.2	152.5	94.8	Khiaosa-Ard et al u.d.
Yucca schidigera	sars. extract	1 mg/kg	*in vitro*	126.8	96.3	98.6	93.4	Śliwiński et al 2002a
Yucca schidigera	sars. extract	20 mg/kg	*in vitro*	97.2	101.6	105.8	91.9	Śliwiński et al 2002a
Yucca schidigera	sars. extract	100 mg/kg	*in vitro*	92.3	102.3	76.9	78.7	Śliwiński et al 2002a
Yucca schidigera	sars. extract	2 mg/kg	*in vivo*	113.6	95.8	228.9	58.5	Śliwiński et al 2002b
Yucca schidigera	sars. extract	30 mg/kg	*in vivo*	108.0	100.6	159.9	56.1	Śliwiński et al 2002b
Sesbania sesban 15019	leaf diosg. eq.	63.8 g/kg	*in vitro*	113.6	157.1*	190.1	1829*	Zeleke et al u.d.
Sesbania sesban 10865	leaf diosg. eq.	143.4 g/kg	*in vitro*	62.1	112.7*	174.0	1247*	Zeleke et al u.d.
Acacia angustissima 459	leaf diosg. eq.	105.4 g/kg	*in vitro*	102.1	116.0*	163.5	564*	Zeleke et al u.d.
Moringa oleifera	leaf	n.d.	*in vitro*	88.0	99.7	104.4	63.2*	Soliva et al 2005
Moringa oleifera	leaf extract	n.d.	*in vitro*	62.5*	106.7	84.1	86.8	Soliva et al 2005

[a] amount related to NDF degraded (*in vitro*) or digested (*in vivo*)

[b] total tract (*in vivo*) or ruminal (*in vitro*) protein degradation

[c] mmol/l ruminal fluid (*in vivo*) or incubation fluid (*in vitro*)

sars., sarsaponin; disog. eq., diosgenin equivalent; n.d. not determined; u.d., unpublished data

* significantly different compared to respective control ($P<0.05$)

Besides *P. saman* (Hess et al 2003a) only the leaves of *M. oleifera* decreased ruminal ammonia concentration in the *in vitro* study of Soliva et al (2005) but in this study the PSM contents were not determined. According to Makkar and Becker (1998), *M. oleifera* is an excellent tree forage of good quality for tropical countries. The plants used in the *in vitro* study of Zeleke et al (unpublished data) increased both, ammonia and protein degradation, to a high extent compared to the control diet which consisted, as indicated above, of a nitrogen poor tropical grass. This might also explain part of the huge effect of supplied *S. sesban* and *A. angustissima* on ammonia and protein degradation. Nevertheless, when comparing two accession of *S. sesban*, huge differences were found in ammonia and protein degradation rates. Low ruminal ammonia concentrations can limit fibre degradation and microbial protein synthesis and therefore limit both metabolic energy and protein supply to the ruminant. Such low ammonia concentrations in the rumen can occur in the tropics, especially during the dry season, when only low-nitrogen tropical grass is available to the ruminants, which restricts feed intake and the efficiency of feed utilization. The dietary supplementation with saponin containing leguminous shrubs, therefore, not only delivers a higher crude protein supply but also increases ruminal ammonia concentrations to levels which allow rumen microbial activity to be maximised. Regarding protein degradation, except for *S. saponaria* fruits (Hess et al 2004) no saponin-containing plant resulted in a decrease compared to the respective controls.

Methane formation related to NDF degraded generally did not differ between the saponin supplemented treatments and the respective controls indicating that ruminal methanogens were not affected. This can be explained by the fact that in most studies the symbiotic protozoa were not affected by the saponin-containing plants either or by an adaptation process of the ruminal methanogens to the saponins. From the plants tested, only *M. oleifera* extract (Soliva et al 2005) decreased methane formation, most probably due to the saponins and tannins available in the extract. The anti-microbial action of saponins is assumed to be founded in their complex forming ability with sterols present in the microbial membrane surface. The mode of action of rumen microbial adaptation processes to the saponins, however, is still unknown. Again, the saponin-containing plants investigated in the present studies most probably also contained other PSM such as tannins. E.g. in Zeleke et al. (unpublished data) one saponin-rich accession of *A. angustissima*, and the two *S. sesban* accessions contained, besides saponins, 15.8, 1.02, and 19.6 g condensed tannins and 158.2, 32.8, and 102.3 g total phenols per kg leaf DM, respectively. Therefore it is difficult to assign specific effects as to be saponin-derived as they might have been a result of the present tannins or a tannin-saponin combination.

Restrictions in the effectiveness of PSM

The magnitude of the positive effects of PSM on performance of ruminants is dependent on several aspects. It could be shown in various studies that the dosage of PSM in the diet is a major constraint. With tannins generally higher dosages are necessary to get positive effects compared with saponins which, due to their higher toxicity, show effects at quite small dosages. The often unknown chemical structure of the individual PSM is most probably another important factor as it was shown that plants with similar contents of tannins express different effects. Tannins and saponins are umbrella terms for very heterogeneous chemical structures and therefore a more precise identification of the PSM type seems to be necessary to make a reliable prediction of its effectiveness when added to ruminant diets. Finally the diet type, intensive or extensive, and its nutrient composition is important, as dietary components might interact with PSM and therefore change their effectiveness.

In highly intensive ruminant husbandry systems, e.g. in industrialized countries, the application of commercially available PSM extracts might be preferable to PSM containing plants as the dosage is easier to handle and therefore the effectiveness is better guaranteed than with plants of differing forage quality and PSM concentrations. However, until now only few PSM extracts are available and the structure-activity relationship needs to be tested first to avoid any detrimental effects to the animal. In PSM containing plants, and thereby even in the same plant species, there are huge differences of PSM compositions and concentrations. Dependent on the plant growth conditions (climate, rainfall, soil type and fertility, herbivorous attacks, etc.) the plants synthesize more or less of these substances to protect themselves. It is even highly likely that the plants contain varying mixtures of different PSM such as tannins and saponins whereby probably a specific combination of PSM might be even more effective than an individual PSM alone. This was shown in the study of Zeleke et al (unpublished data) and Hess et al (2006) where the same plant species with different accessions and different cultivation sites, respectively, resulted in differences in their effectiveness. In many developing countries, the application of intact material of PSM containing plants as forage might be very useful as explained above but especially because these plants (often shrubs and multipurpose trees) are indigenous to the countries in the tropics and sub-tropics.

As mentioned above tannins can also perform detrimental nutritional effects when used in the diet of ruminants. In the past tannins were often described as anti-nutritional factors as they might cause lower feed intake, mainly due to its bitter taste, lower nutrient digestibility, thus resulting in lower liveweight gains, milk yield and wool growth (Kumar and Singh 1984). Tannins and saponins were shown to express harmful or even toxic effects in ruminants. However, there are ways to overcome the negative impact of, e.g. tannins on ruminants. In Australia, where sheep are fed during drought with *Acacia aneura*, a CT-rich plant, supplementation with nitrogen, phosphorous, and sulphur helps to overcome liveweight losses (Miller et al 1995). The addition of several polymers, e.g. polyethylene glycol, was shown to strongly bind to tannins and therefore reduce their anti-nutritional or toxic effect. Detrimental effects to the animal or negative impacts on feed intake and digestibility of PSM, however, mostly occur only with high PSM dosages. In the *in vivo* study of Carulla et al (2005) forage intake was not negatively affected by the *A. mearnsii* extract supplemented while neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) but not hemicellulose digestibility was decreased (data not shown). Bhatta et al (2002) recorded a significant decrease in feed intake with tannin concentrations of > 60g/kg feed DM. In the study of Śliwiński et al (2002b) neither feed intake nor fiber (NDF and ADF) degradation was suppressed by the HT and the saponin dosages added to the diets. The same was true for the saponin supplemented diets in the study of Abreu et al (2004, data not shown). Only in the study of Hess et al (2004, data not shown) total tract digestibility of NDF and ADF were reduced by the supplementation with *S. saponaria* while feed intake remained unaffected.

Conclusion

Although both types of PSM discussed in the present paper, tannins and saponins, might act positively on ruminants protein utilization their way of action differs. Until now the variable effects on ruminal microbes and fermentation can not be explained in detail due to missing or not yet reliable analytical methods. Further the mode of action of the individual PSM on the microbes is not yet determined which makes predictions for effectiveness of PSM added to ruminal diets more difficult. Therefore, despite the increasing demand of commercial available extracts, more studies investigating the effect of individual and defined PSM are necessary to develop feeding strategies which reliable improve animals' performance and decrease environmental hazards deriving from ruminant husbandry.

References

Abreu, A., Carulla, J.E., Lascano, C.E., Díaz, T.E., Kreuzer, M., Hess, H.D. (2004): Effects of *Sapindus saponaria* fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. J. Anim. Sci. 82, 1392-1400.

Bhatta, R., Shide, A.K., Vaithiyanathan, S., Sankhyan, S.K., Verma, D.L. (2002): Effect of polyethylene glycol-6000 on nutrient intake, digestion and growth of kids browsing *Prosopis cineraria*. Anim. Feed Sci. Technol. 101, 45-54.

Broderick, G.A., Albrecht, K.A. (1997): Ruminal *in vitro* degradation of protein in tannin-free and tannin-containing forage legume species. Crop Sci. 37, 1884-1891.

Butler L.G. (1992); Antinutritional effects of condensed and hydrolysable tannins. In: Hemingway, R.W., Laks, P.E. (eds.) Plant phenols. Synthesis, Properties, Significance. Plenum Press, NY City, pp. 693-698.

Carulla, J.E., Kreuzer, M., Machmüller, A., Hess, H.D. (2005): Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. Austr. J. Agric. Res. 56, 961-970.

Givens D.I., Rulquin H. (2004): Utilisation by ruminants of nitrogen compounds in silage-based diets. Anim. Feed Sci. Technol. 114, 1-18.

Güçlü-Üstundağ, Ö., Mazza G. (2007): Saponins: Properties, Applications and Processing. Crit. Reviews Food Sci. Nutr. 47, 231-258.

Hess, H.D., Kreuzer, M., Díaz, T.E., Lascano, C.E., Carulla, J.E., Soliva, C.R., Machmüller, A. (2003a): Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. Anim. Feed Sci. Technol. 109, 79-94.

Hess, H.D., Monsalve, L.M., Lascano, C.E., Carulla, J.E., Díaz, T.E., Kreuzer, M. (2003b): Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on *in vitro* ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. Aust. J. Agric. Res. 54, 703-717.

Hess, H.D., Beuret, R.A., Lötscher, M., Hindrichsen, I.K., Machmüller, A., Carulla, J.E., Lascano, C.E., Kreuzer, M. (2004): Ruminal fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with *Sapindus saponaria* fruits and *Cratylia argenta* foliage. Anim. Sci. 79, 177-189.

Hess, H.D., Tiemann, T.T., Noto, F., Franzel, S., Lascano, C.E., Kreuzer, M. (2006): The effect of cultivation site on forage quality of *Calliandra calothyrsus* var. Patulul. Agroforest. Syst.68, 209-220.

Kumar R., Singh M. (1984): Tannins-their adverse role in ruminants nutrition. J. Agric. Food Chem. 32, 447-453.

Makkar, H.P.S., Becker, K. (1998): Do tannins in leaves of trees and shrubs from African and Himalayan regions differ in level and activity? Agrofor. Syst. 20, 59-68.

Miller S.M., Brooker J.D., Blackall L.L. (1995): A feral goat rumen fluid inoculum improves nitrogen retention in sheep consuming a mulga (*Acacia aneura*) diet. Aust. J. Agric. Res. 46, 1545-1553.

Mueller-Harvey I. (2006): Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. Review. J. Sci. Food Agric. 86, 2010-2037.

Newbold, C.J., El Hassan, S.M., Wang, J., Ortega, M.E., Wallace, R.J. (1997): Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. Br. J. Nutr. 78, 237 – 249.

Śliwiński, B.J., Soliva, C.R., Machmüller, A., Kreuzer, M. (2002a): Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 101, 101-114.

Śliwiński, B.J., Kreuzer, M., Wettstein, H.-R., Machmüller, A. (2002b): Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins, and associated emissions of nitrogen and methane. Arch. Anim. Nutr. 56, 379-392.

Soliva, C.R., Kreuzer, M., Foidl, N., Foidl, G., Machmüller, A., Hess, H.D. (2005): Feeding value of whole and extracted *Moringa oleifera* leaves for ruminants and their effects on ruminal fermentation *in vitro*. Anim. Feed Sci. Technol. 118, 47-62.

Wallace, R.J., McEwan, N.R., McIntosh, F.M., Teferedegne, B., Newbold, C.J. (2002): Natural products as manipulators of rumen fermentation. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 15, 1458-1468.

Zamora, S., Garcia, J., Bonilla, G., Aguilar, H., Harvey, C. Ibrahim, M. (2001): The use of fruit and forage of woody species in livestock production systems in Boaco, Nicaragua. In: Ibrahim, M. (compiler), International Symposium on Silvopastoral Systems, 2nd Congress on Agroforestry and Livestock Production in Latin America. San José, Costa Rica, pp. 328-331.

Authors address

Dr. Carla Riccarda Soliva
Group of Animal Nutrition, Institute of Animal Science
ETH Zurich, Universitätstr. 2, CH-8092 Zurich
e-Mail: carla.soliva@inw.agrl.ethz.ch

Spurenelemente als Faktoren der Tiergesundheit

Jürgen Zentek, Petra Hellweg, Annabella Khol-Parisini

Institut für Tierernährung/Institut für Ernährung, Freie Universität Berlin, Brümmer Str. 34, 14195 Berlin/Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1210 Wien

Einleitung

Spurenelemente sind für die Aufrechterhaltung der tierischen Gesundheit und Leistungsfähigkeit essenziell. Traditionell standen in der Tierernährungswissenschaft in diesem Bereich Forschungsarbeiten zur Ermittlung des Bedarfs sowie der bedarfsbeeinflussenden Faktoren im Vordergrund. Entsprechend sind die Daten in die aktuellen Versorgungsempfehlungen eingearbeitet worden, wobei es immer wieder Diskussionen gibt, ob diese Empfehlungen für praktische Bedingungen in jedem Fall den „optimalen" Bereich darstellen. Nicht zuletzt aus Gründen der Krankheitsprophylaxe ist die Spurenelementversorgung landwirtschaftlicher Nutztieren in der Praxis zum Teil deutlich höher als es nach den wissenschaftlichen Versorgungsempfehlungen notwendig wäre. Klassische Mangelzustände werden heute nur noch selten eindeutig diagnostiziert, allerdings werden primäre oder sekundäre Defizite häufig als Ursache für gesundheitliche Störungen vermutet. Fragen nach den gesundheitlichen Wirkungen von Spurenelementen sind zwar immer wieder auch experimentell aufgegriffen worden, allerdings konnten viele Ergebnisse erst in jüngster Zeit mithilfe entsprechend differenzierter Versuchsansätze und Messmethoden erzielt werden. Während die Bedeutung einer adäquaten Versorgung mit Spurenelementen prinzipiell unstrittig ist, wird die Thematik in vielen Bereichen aus wissenschaftlicher Perspektive beziehungsweise aus Sicht der Praxis durchaus kontrovers diskutiert. In der Diskussion der letzten Jahre fanden insbesondere Stichworte wie „organisch gebundene Spurenelemente", „steigende tierische Leistungen und dadurch veränderter Bedarf", „Umweltbelastung" oder auch „Produktqualität" Beachtung. Besondere Eigenheiten kommen dem Thema der Spurenelementversorgung unter den Bedingungen der biologischen Landwirtschaft bzw. bei extensiv betriebener Tierhaltung zu.

Aufgrund der vielfältigen Bedeutung der Spurenelemente für zahlreiche Funktionen im Organismus muss eine erschöpfende Darstellung Lehrbüchern und Übersichtsarbeiten vorbehalten bleiben. Im Folgenden sollen exemplarisch Wirkungen einer bedarfsgerechten beziehungsweise nicht adäquaten Versorgung mit Spurenelementen auf gesundheitsrelevante Faktoren bei Nutztieren diskutiert werden. Dabei sollen neben der Darstellung der Grundlagen und diagnostischer Aspekte mögliche Effekte auf den Intestinaltrakt, auf die Funktion der Milchdrüse und das Immunsystem und die Infektionsresistenz bei Haustieren angesprochen werden.

Diagnostische Aspekte zur Untersuchung einer bedarfsdeckenden Versorgung mit Spurenelementen

Die Aussage, dass eine bedarfsdeckende Spurenelementversorgung für die Tiergesundheit und die Leistungsfähigkeit landwirtschaftlicher Nutztiere von hoher Bedeutung ist, ist unbestritten. Die Funktion von Spurenelementen ist ausgesprochen vielfältig, allein für Zink konnten etwa 300 Coenzymfunktionen identifiziert werden, weiterhin bestehen Einflüsse auf der Genom-, Transkriptions- und Proteinebene. Defizite treten nach den entsprechenden experimentellen Befunden insbesondere bei schnellwüchsigen Jungtieren beziehungsweise bei hoch leistenden Tieren klinisch in Erscheinung. Ein besonderes Problem stellt in der Praxis die Diagnostik dar. Futteruntersuchungen gelten zwar allgemein als probates Mittel, um die Versorgungslage einschätzen zu können, werden jedoch aus Gründen der Kosten beziehungsweise aufgrund der Komplexität möglicher Interaktionen von Spurenelementen, Mengenelementen und sonstigen Futterinhaltsstoffen nur in Ausnahmefällen durchgeführt. Vielfach werden im Verdachtsfall Blutuntersuchungen vorgenommen, um den Spurenelementstatus von Tieren zu überprüfen. Blutuntersuchungen sind jedoch nur zum Teil geeignet, den Spurenelementstatus korrekt zu reflektieren, da bei vielen Elementen die Konzentrationen durch die ausgeprägte Homöostase in weiten Bereichen konstant gehalten werden und nur extreme Unter- beziehungsweise Überversorgungen zu signifikanten Veränderungen der Blutwerte führen.

Tab. 1: Geeignete Substrate zur Untersuchung des Spurenelementstatus von Tieren

	Spurenelement						
Geeignetes Substrat	Kupfer	Zink	Eisen	Mangan	Selen	Kobalt	Jod
Futter	x	x	x	X	x	x	x
Leber	x	x	x	X	x	x	
Niere		x		X	x	x	
Serum	x	x			x		x
Blut		x	x		x		
Milch					x		x
Harn		x					x
Haare	x	x			x		
Knochen		x					
Feten		x					

Zudem besteht bei der Beurteilung von Blutwerten eine große Gefahr, dass durch die Kontaminationen der Probe bei der Entnahme beziehungsweise während der Lagerung verfälschte Werte resultieren. Häufig ist es wesentlich günstiger, Organe von Schlachttieren oder anlässlich von Sektionen gewonnene Materialien als Untersuchungssubstrate zu verwenden. Leber, Nieren oder Knochen stellen für verschiedene Spurenelemente wichtige Speicherorgane dar und können zur Beurteilung der Versorgungslage herangezogen werden. Auch Milch und Haare können durchaus Informationen liefern, weniger häufig werden Harnproben untersucht. In schwierigen Fällen empfiehlt es sich, neben Substraten, die vom Tier stammen (Tab. 1), auch eine Untersuchung der Ration vorzunehmen. Dabei ist nicht nur das jeweilige fragliche Element von Interesse, es sollten gleichzeitig auch Interaktionen durch andere Spurenelemente oder anorganische Bestandteile des Futters überprüft werden.

Effekte von Zink und Kupfer auf den Intestinaltrakt

Spurenelemente haben vielfältige Funktionen auf die verdauungsphysiologischen Aspekte, insbesondere auf die Zusammensetzung und die Stoffwechselaktivität der intestinalen Mikrobiota, aber auch auf die Funktion des Darmepithel zu beziehungsweise im Rahmen der Prophylaxe von Störungen von Absorptions- und Sekretionsvorgängen. In diesem Zusammenhang ist in den vergangenen Jahren neben der Versorgung mit Kupfer insbesondere auch dem Zink große Aufmerksamkeit zuteil geworden. Ein besonderer Schwerpunkt war dabei die Problematik von Durchfallerkrankungen in der Absetzperiode von Ferkeln. Durchfallerkrankungen stellen bei Absetzferkeln ein wichtiges und bislang aus prophylaktischer und therapeutischer Sicht unzureichend gelöstes Problem dar. Wichtigste Ursache für Durchfallerkrankungen ist eine Infektion durch enteropathogene E. coli. Aufgrund der kritischen Diskussion um den Einsatz von antibiotisch wirkenden Substanzen und des Verbots dieser Gruppe von Futterzusatstoffen wird seit einiger Zeit eine intensive Suche nach Alternativen betrieben. Zinkoxid wird in dieser Indikation in der Praxis verwendet und weist bei Ferkeln gesundheitsstabilisierende und leistungsfördernde Wirkungen auf. verschiedene Hypothesen werden hinsichtlich seiner Wirkung im Intestinaltrakt diskutiert, unter anderem die Beeinflussung der intestinalen Mikroflora, direkte Effekte auf strukturelle und funktionale Aspekte (Absorptions- und Sekretionsvorgänge) der Darmwand sowie ein Einfluss auf das darmassoziierte und allgemeine Immunsystem und die Expression für die unspezifischen Abwehrmechanismen wichtiger Proteine. Zum möglichen Effekt einer höheren Zinkaufnahme auf die Zusammensetzung der Darmflora liegen nur wenige experimentelle Daten vor. Bei Gabe von 2500 mg Zink (als Oxid) im Ferkelfutter war die Keimflora im Dünndarm nach eigenen Untersuchungen nicht nachweislich beeinflusst (Zentek et al., unveröff.). Entsprechende Befunde bestätigen sich auch in verschiedenen weiteren Arbeiten, wobei allerdings eine stabilisierende Wirkung von Zink auf die E. coli Population nach dem Absetzen zu verzeichnen war, so dass möglicherweise weniger der Keimkonzentration insgesamt als vielmehr der mikrobiellen Vielfalt eine Schlüsselrolle zukommen könnte (Jensen-Waern, Melin et al. 1998; Katouli, Melin et al. 1999). Erhöhte Zinkgaben gingen bei Schweinen mit einer verminderten Bakterientranslokation aus dem Intestinaltrakt in die Darmlymphknoten einher, so dass von einem stabilisierendem Effekt auf die Darmpermeabilität auszugehen ist (Huang, McFall et al. 1999). Die Futterverwertung wurde durch praxisübliche Zinkkonzentrationen im Futter meist nicht signifikant beeinflusst. Auch morphometrische Befunde der Darmwandhistologie zeigten keine eindeutigen Effekte seitens einer erhöhten Gabe von Zinkoxid. Hohe Zinkgaben können die Reaktivität der Darmschleimhaut auf sekretorische Stimuli reduzieren (Carlson, Poulsen et al. 2004; Carlson, Sehested et al. 2006). Dieses wurde modellhaft an Absetzferkeln gezeigt, bei denen die Chloridsekretion nach Stimulierung isolierter Darmschleimhäute mit Theophyllin oder 5 Hydroxytryptamin nach hoher Zinkzufuhr signifikant reduziert war. Unterschiedliche organische (Zn-Lysin, -Methionin) und anorganische Zinkverbindungen (Zn-Sulfat) zeigten in jeweils variierenden Kombinationen und Dosierungen keine eindeutigen Effekte auf die zelluläre und humorale Immunantwort bei Schweinen (Heugten, Funderburke et al. 2003). Erhöhte Gaben von Zink führten jedoch in einer weiteren Arbeit zu einer dosisabhängigen (200, 500, 2500 ppm) Beeinflussung der Wachstumsraten und auch einiger Immunparameter (Lymphozytenproliferationstest) bei Ferkeln (Davis, Brown et al. 2004). Allerdings war die Reaktion im Proliferationstest nicht einheitlich gerichtet. Bei Ferkeln einer chinesischen Landrasse konnte bei erhöhter Zinkaufnahme eine erhöhte Expression eines antibakteriell wirkenden Peptids festgestellt werden (Wang, Xu et al. 2004). Eine Wirkung war tendenziell bei Gabe von 100 mg Zink als ZnO und signifikant beim Einsatz von 3000 mg Zink/kg Mischfutter festzustellen. In vergleichbarer Weise verhielten sich die Wachstumsraten und die Diarrhöeprävalenz. Erhöhte Wachstumsraten standen im deutlichen Zusammenhang mit höheren Serumkonzentrationen an insulinähnlichem Wachstumsfaktor I (Carlson, Poulsen et al. 2004). Die in den meisten Studien eingesetzten Zinkmengen waren deutlich höher als nach futtermittelrechtlichen Maßstäben zulässig. Daher ist es notwendig, neben der Aufklärung der möglichen Wirkmechanismen alternative und weniger umweltbelastende Applikationsformen zu finden und hinsichtlich ihrer Effizienz zu überprüfen. Neben dem Zink wurde insbesondere auch der Einfluss von Kupfer auf die intestinale Mikroflora und

die Darmfunktion bei Schweinen untersucht. Kupfer hat nachgewiesenermaßen bei erhöhter Zufuhr im Rahmen der gesetzlich möglichen Dosierungsbreite stabilisierende Wirkungen auf die mikrobielle Verdauung beim Schwein und auch bei anderen Tierarten (Bolduan and Jung 1988; Hojberg, Canibe et al. 2005), allerdings scheint diese geringer zu sein als bei Zink und ist zudem nicht ganz frei vom Risiko einer Resistenzbildung (Hasman and Aarestrup 2003).

Effekte von Zink und Selen auf die Funktion der Milchdrüse

Für die Funktion der Milchdrüse sind die Spurenelemente Zink und insbesondere auch Selen mit besonderem Nachdruck bearbeitet worden. Entzündliche Erkrankungen bzw. Infektionen des Euters treten bei nicht bedarfsdeckender Spurenelementversorgung gehäuft auf (Hamann 1996), andererseits können Veränderungen des Spurenelementmetabolismus auch Folge einer Erkrankung sein (Ranjan, Swarup et al. 2005). Mehrere Arbeiten haben auch die möglichen Effekte durch organisch gebundene im Vergleich zu anorganisch gebundenen Spurenelementen untersucht (Gruber and Bellof 1998; Riesen 2001). Unter bestimmten Bedingungen scheint die Verfügbarkeit der organischen Verbindungen höher sein. Zink- und Selenmangel können zu verminderter Abwehrfunktion und damit erhöhter Anfälligkeit des Euters für Infektionen führen. Mehrere Arbeiten zeigen, dass eine bedarfsdeckende Zulage von Selen bei zuvor unzureichender Versorgung eine signifikante Reduktion von Euterentzündungen bewirkt (Malbe, Klaassen et al. 1995; Malbe, Attila et al. 2006). Aus verschiedenen Untersuchungen lässt sich ableiten, dass in der Gesamtration Selengehalte von 0,2 mg/kg TS enthalten sein sollten, andernfalls ist das Risiko für Eutererkrankungen erhöht. Zahlreiche zu dieser Frage durchgeführte Untersuchungen zeigen, dass unterschiedliche zelluläre und humorale Effektoren des Immunsystems bei Selenmangel negativ beeinflusst werden (Saeed, Diss. in Vorbereitung).

Effekte der Spurenelementversorgung auf das Immunsystem und die Infektionsresistenz bei Haustieren

Aus Sicht der Tierernährung ist die Unterstützung des Immunsystems durch optimierte Futterzusammensetzung von Interesse, um seine optimale Funktionsfähigkeit zu erhalten (Bosi and Trevisi 2006). Sowohl Futterkomponenten als auch einzelne Nähr- bzw. Zusatzstoffe können Immunfunktionen beeinflussen. Diätetische Faktoren können direkt oder indirekt über die Interaktion mit der Darmmikrobiota auf das Darmimmunsystem einwirken. Die bedarfsgerechte Versorgung mit Protein bzw. Aminosäuren, Fettsäuren, fermentierbaren Kohlenhydraten bzw. Zellwandbestandfraktionen, Vitaminen sowie Spurenelementen ist für eine optimale Reaktionsfähigkeit des Immunsystems notwendig. Die Funktion des Immunsystems wird durch die Spurenelementversorgung nachhaltig beeinflusst und dieses hat wiederum Auswirkungen auf die Widerstandsfähigkeit von Nutztieren gegenüber infektiösen und nicht-infektiösen Faktoren. Einige Spurenelemente wirken sich eher auf zelluläre Vorgänge aus, z.B. Zink, während andere auf die humoralen Prozesse oder angeborene Immunvorgänge wirken. Allerdings sind die Wirkungen bei landwirtschaftlichen Nutztieren oft nur unzureichend untersucht (Broom, Miller et al. 2006). Immunzellen benötigen Spurenelemente zur Bildung von Metalloproteinen sowie für Proteine, die für den Energiestoffwechsel und den Schutz vor reaktiven Sauerstoffradikalen erforderlich sind. Eisen und Zink werden für die Nukleinsäuresynthese im Rahmen der Zellbildung im Knochenmark benötigt. Einige Metalloenzyme greifen auch direkt in die Immunfunktion ein, z.B. das Häm-Eisen für die Aktivität der Myeloperoxidase und die Bildung von Hypochlorsäure, die mikrobizid wirkt (Failla 2003).

Schrifttum

Bolduan, G. and H. Jung (1988). "Effect of copper on microbial digestion in weaned piglets." Tierzucht 42(2): 82-83.

Bosi, P. and R. Trevisi (2006). "Immune response and nutrient intake." Biology of nutrition in growing animals: 343-363.

Broom, L. J., H. M. Miller, et al. (2006). "Effects of zinc oxide and Enterococcus faecium SF68 dietary supplementation on the performance, intestinal microbiota and immune status of weaned piglets." Research in Veterinary Science 80(1): 45-54.

Carlson, D., H. D. Poulsen, et al. (2004). "Influence of weaning and effect of post weaning dietary zinc and copper on electrophysiological response to glucose, theophylline and 5-HT in piglet small intestinal mucosa." Comparative Biochemistry and Physiology A, Molecular and Integrative Physiology 137(4): 757-765.

Carlson, D., H. D. Poulsen, et al. (2004). "Additional dietary zinc for weaning piglets is associated with elevated concentrations of serum IGF-I." Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 88(9/10): 332-339.

Carlson, D., J. Sehested, et al. (2006). "Zinc reduces the electrophysiological responses in vitro to basolateral receptor mediated secretagogues in piglet small intestinal epithelium." Comparative Biochemistry and Physiology A, Molecular and Integrative Physiology 144(4): 514-519.

Davis, M. E., D. C. Brown, et al. (2004). "Effect of phosphorylated mannans and pharmacological additions of zinc oxide on growth and immunocompetence of weanling pigs." Journal of Animal Science 82(2): 581-587.

Failla, M. L. (2003). "Trace Elements and Host Defense: Recent Advances and Continuing Challenges." J. Nutr. 133: 1443S-1447S.

Gruber, H. and G. Bellof (1998). "The effect of organic zinc compounds on the udder health of dairy cows." Milchpraxis 36(3): 124-127.

Hamann, J. (1996). "Nutrition in mastitis aetiology." Ubersichten zur Tierernahrung 24(1): 141-148.

Hasman, H. and F. M. Aarestrup (2003). "Bacterial resistance to copper in animal feeds." Dansk Veterinaertidsskrift 86(5): 6-8.

Heugten, E. v., D. W. Funderburke, et al. (2003). "Growth performance, nutrient digestibility, and faecal microflora in weanling pigs fed live yeast." Journal of Animal Science 81(4): 1004-1012.

Hojberg, O., N. Canibe, et al. (2005). "Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets." Applied and Environmental Microbiology 71(5): 2267-2277.

Huang, S. X., M. McFall, et al. (1999). "Effect of dietary zinc supplementation on Escherichia coli septicemia in weaned pigs." Swine Health and Production 7(3): 109-111.

Jensen-Waern, M., L. Melin, et al. (1998). "Dietary zinc oxide in weaned pigs - effects on performance, tissue concentrations, morphology, neutrophil functions and faecal microflora." Research in Veterinary Science 64(3): 225-231.

Katouli, M., L. Melin, et al. (1999). "The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs." Journal of Applied Microbiology 87(4): 564-573.

Malbe, M., M. Attila, et al. (2006). "Possible involvement of selenium in Staphylococcus aureus inhibition in cow's whey." Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 90(3/4): 159-164.

Malbe, M., M. Klaassen, et al. (1995). "Comparisons of selenite and selenium yeast feed supplements on Se-incorporation, mastitis and leukocyte function in Se-deficient dairy cows." Journal of Veterinary Medicine Series A 42(2): 111-121.

Ranjan, R., D. Swarup, et al. (2005). "Enhanced erythrocytic lipid peroxides and reduced plasma ascorbic acid, and alteration in blood trace elements level in dairy cows with mastitis." Veterinary Research Communications 29(1): 27-34.

Riesen, G. (2001). "Nutritional factors influencing milk quality. Use of organic compounds of trace elements to improve udder health." Milchpraxis 39(4): 217-219.

Wang, Y. Z., Z. R. Xu, et al. (2004). "Developmental gene expression of antimicrobial peptide PR-39 and effect of zinc oxide on gene regulation of PR-39 in piglets." Asian Australasian Journal of Animal Sciences 17(12): 1635-1640.

Autorenadresse

Jürgen Zentek
Freie Universität Berlin
Brümmer Str. 34, 14195 Berlin
bzw.
Veterinärmedizinische Universität Wien
Veterinärplatz 1, 1210 Wien

Impact of health deterioration and environment on tryptophan metabolism and requirement in pigs

Nathalie Le Floc'h

INRA SENAH, 35590 Saint Gilles, France

Tryptophan is an essential amino acid. This means that it has to be supplied through the feed since it can not be synthesized by the animal. In pig, tryptophan is the fourth limiting amino acid for growth of piglets and growing pigs in cereal based diets. This means that when tryptophan supply is low compared to the other essential amino acids, this will limit protein synthesis and accretion and, finally, growth rate. Tryptophan is involved in several biological functions other than its incorporation into body protein (Figure 1). Indeed, tryptophan is involved in the production of serotonin, a neuromediator produced mainly in the gut and also in platelets and brain. Tryptophan is also metabolised through a specific kynurenine pathway which is associated to body defenses and immune response regulation.

In pig husbandry activation of body defences and immune system can occur during the different steps of pig life span. Bad sanitary conditions, moderate infectious diseases or periods of transition such as weaning are situations that may limit growth performance by influencing feed intake and affecting nutrient utilisation and metabolism. Amino acids for instance are deviated from body protein accretion associated to growth towards tissues and functions involved in body defences. They can be used as energetic substrates, incorporated in specific proteins such as acute phase proteins or for some of them, used as precursor for molecules involved in body defences. Utilisation of amino acids in metabolic pathways associated to body defences, as mentioned earlier for tryptophan, is not necessary fully compensated by endogenous supplies. Thus the knowledge of metabolic disturbance induced by inflammatory and immune response should help to adapt feeding strategy in order to preserve tryptophan availability for both growth and body defences. Among essential amino acids, tryptophan seems to be a good example for questioning growth rate as a single criterion for the evaluation of tryptophan requirement, and identifying specific requirements for health care or preservation.

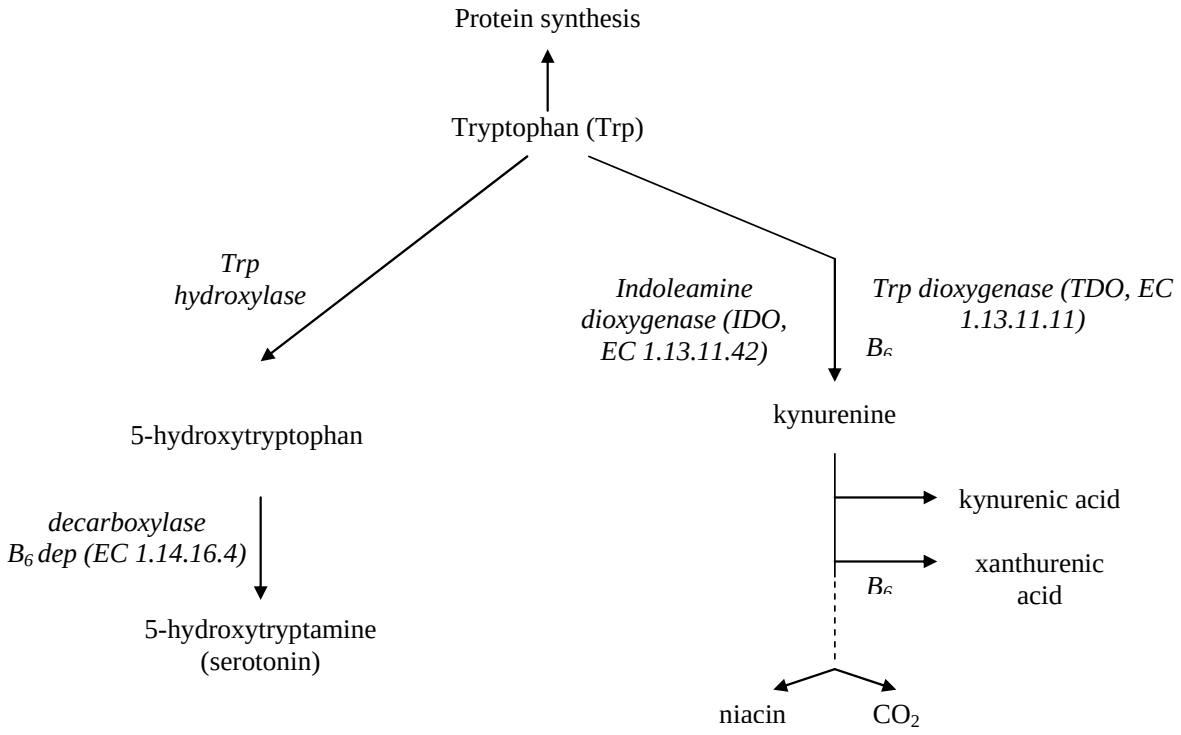


Figure 1. Metabolic pathways of tryptophan.

Inflammatory response modifies tryptophan metabolism

In pigs, Melchior et al. (2004 and 2005) showed that inflammation induced tryptophan metabolism disturbances. Indeed, in this species, chronic lung inflammation was associated to a decrease in tryptophan plasma concentrations compared to pair-fed healthy piglets (Melchior et al. 2004; Figure 2).

Such a response can be associated to an increased tryptophan utilisation for metabolic processes other than body protein accretion. Two metabolic pathways could be involved in the disappearance of plasma tryptophan: the first one is the incorporation of tryptophan in acute phase protein synthesised in great amount during the inflammatory process (Reeds et al., 1994); the second pathway corresponds to tryptophan catabolism into kynurenine by the enzyme indoleamine 2,3 dioxygenase or IDO (E.C. 1.13.11.42). This catabolic pathway is activated by the cytokine interferon γ. In piglet, lung inflammation induced both haptoglobin synthesis, a major acute phase protein in pig, and IDO activity in the lungs and associated lymph nodes (Melchior et al., 2004 and 2005). In several other animal species and human, the depletion of free plasma tryptophan has been associated to increased tryptophan degradation under IDO activation occurring in various inflammatory states. Indeed the enzyme IDO is stimulated by pro-inflammatory cytokines and especially interferon-γ (Takikawa et al., 1998; Fujigaki et al., 2001, Moffett and Namboodiri, 2003). The induction of IDO pathway has been proposed to be a mechanism that limits the availability of tryptophan during an inflammatory process and may play crucial roles in the regulation of the immune and inflammatory responses (Pfefferkorn, 1984; Christen et al. 1990; Mellor and Munn, 1999).

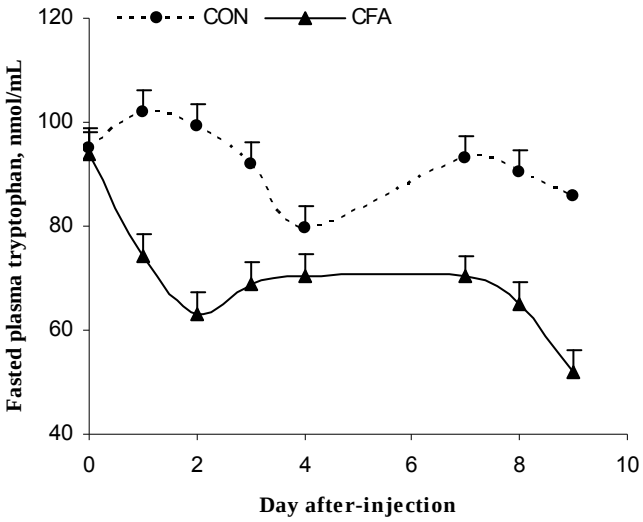


Figure 2. Time response of plasma tryptophan measured in fasted pigs suffering from lung inflammation (CFA) and in control (CON) healthy pair-fed piglets (Melchior et al., 2004). Lung inflammation was induced by an intravenous injection of Complete Freund Adjuvant (CFA). Values are adjusted means + SEM. Except for basal point (day 0), the difference between treatments is significant ($P < 0.01$).

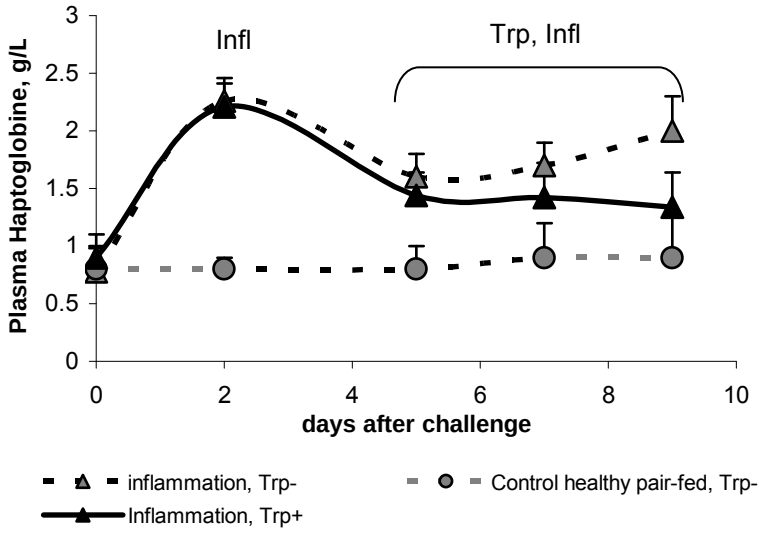


Figure 3. Time response of plasma haptoglobin concentrations measured in control healthy piglets and piglets suffering from lung inflammation fed with a low tryptophan (Trp -) or a well balanced (Trp+) tryptophan diet (Le Floc'h et al., 2004). Values are adjusted means + SEM. Infl and Trp design significant effects ($P < 0.05$) of inflammation and dietary tryptophan on plasma haptoglobin concentrations respectively.

In pigs, the level of dietary tryptophan is able to influence the inflammatory response (Le Floc'h et al. (2004). Indeed, pigs suffering from lung inflammation had lower plasma haptoglobin concentration when they were fed a tryptophan well balanced diet compared to pigs fed a low tryptophan diet (Figure 3). The activity of IDO measured in the lungs and associated lymph nodes also was lower with adequate dietary tryptophan supply. Moreover, lung lesions examined at slaughter were less important when pigs were fed with the control well balanced diet. These results suggest that the inflammatory response was reduced when pigs were fed an adequate tryptophan supply.

Impact of health and sanitary status on tryptophan requirement for growth

The effects of the inflammatory and immune responses on tryptophan metabolism could impair the availability of tryptophan for body protein accretion, growth and all other metabolic processes involving this amino acid. In that way, it has been shown that additional dietary tryptophan can help to preserve plasma tryptophan pool (Figure 4) in pigs suffering from inflammation (Le Floc'h et al., 2004).

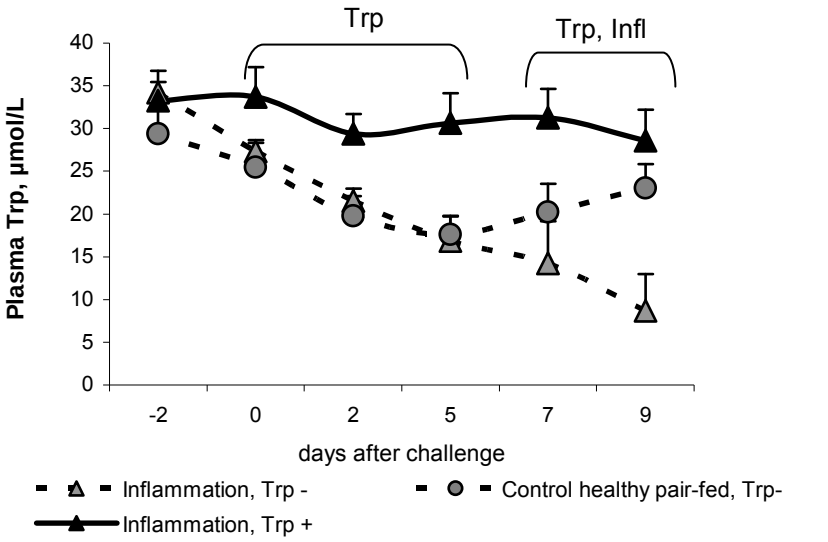


Figure 4. Time response of plasma tryptophan concentrations measured in control healthy piglets and piglets suffering from lung inflammation fed with a low tryptophan (Trp-) or a well balanced tryptophan (Trp +) diet (Le Floc'h et al., 2004). Values are adjusted means + SEM. Infl and Trp design significant effects ($P < 0.05$) of inflammation and dietary tryptophan on plasma tryptophan concentrations respectively.

The deterioration of sanitary housing environment after weaning induced a moderate inflammatory response and modifies tryptophan metabolism in piglets. These responses were characterized by reduced growth rate, higher plasma haptoglobin and lower plasma tryptophan concentrations compared to control piglets kept in good sanitary conditions (Le Floc'h et al., 2005, 2006, 2007). Reduced growth rate was still observed when control piglets were pair fed with those reared in poor sanitary conditions. Therefore the difference in growth rate between sanitary statuses can be

attributed to modifications of nutrient metabolism. Concerning the response of plasma tryptophan, we showed that pigs kept in poor sanitary conditions displayed lower plasma tryptophan concentrations than control piglets whatever the level of dietary tryptophan (Le Floc'h et al., 2005 and 2007). Moreover, increased dietary tryptophan did not fully prevent the consequences of sanitary status deterioration on performance. Nevertheless, the growth rate of piglets kept in poor sanitary conditions was more sensitive to low dietary tryptophan than that of control pigs. As a consequence, the improvement of growth rate induced by increased dietary tryptophan content is more important for pigs submitted to a moderate inflammatory challenge caused by poor sanitary conditions (Figure 5). This confirmed that the quality of the environment can be considered as a factor affecting the tryptophan requirement.

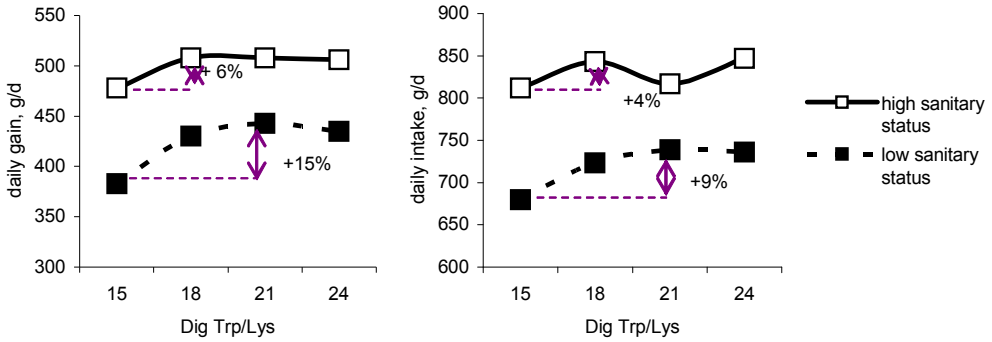


Figure 5. Effect of increase tryptophan dietary content (given as a ratio of digestible (Dig) tryptophan on digestible lysine) on growth rate and feed intake of 8-30 kg pigs housed in good sanitary conditions (high sanitary status) and bad sanitary conditions (low sanitary status). For daily gain and daily intake, the difference between the two sanitary statuses is significant at P< 0.001 (Le Floc'h et al., 2007).

Conclusion

The changes in tryptophan metabolism occurring when health status deteriorates probably influence tryptophan requirements. Tryptophan seems also to exert a positive effect on health through decreasing inflammatory response when it is supplied at a non limiting level. Consequently, tryptophan appears to be able to contribute to preserve health and performance. The question is whether and how dietary tryptophan supplies could be adapted to preserve both health and performance. Indeed, we showed that the physiological and metabolic status of an animal will be different if sanitary status is correct or not.

Generally speaking, what will be the best strategy to adapt nutrition to health status? A preventive strategy may lead to nutrient spoiling since additional nutrients will not be used by animals in good health. By contrast a curative solution may be inefficient since reduced feed intake caused by health deterioration will limit the availability of nutrients. The better strategy is certainly to avoid situations of marginal nutrient deficiency. These deficiencies probably do not have a major impact on productivity but may affect defence function and immunity. Otherwise, a marginal deficiency may become more severe in situations where health is deteriorated. By improving the knowledge of the interactions between nutrient metabolism and defence functions, it becomes possible to detect which nutrients

may become limiting when health status is not optimum. A major problem remains to identify the situations during which an adaptation of nutrient supplies could be relevant for preserving health and performance. To do so, indicators of health and nutritional status are needed. It is probably the main challenge for the future of these applications.

References

Fujigaki S, Saito K, Sekikawa K, Tone S, Takikawa O, Fuji H, Wada H, Noma A, Seishima M, 2001. Lipopolysaccharide induction of indoleamine 2,3-dioxygenase is mediated dominantly by an IFN-□-independent mechanism. Eur. J. Immunol. 31, 2313-2318.

Le Floc'h, N., Melchior, D., Sève, B., 2004. The importance of dietary tryptophan for preserving growth and controlling inflammatory response of weaned pigs submitted to immune stress. In : Madec, F.; Clément, G. (eds.), Animal production in Europe: The way forward in a changing world, Proceedings of International Society for Animal Hygiene, pp. 239-240.

Le Floc'h N, Melchior D, Sève B, 2005. The effect of dietary tryptophan and depressing sanitary status on piglet growth performance after weaning. (in French, with English abstract). Journées Rech. Porcine en France. 37, 231-238.

Le Floc'h N, Jondreville C, Matte JJ, Sève B, 2006. Importance of sanitary environment for growth performance and plasma nutrient homeostasis during the post-weaning period in piglets. Arch. Anim. Nutr. 60, 23-34.

Le Floc'h N, Melchior D, Le Bellego L, Matte JJ, Sève B, 2007. Does sanitary status have an effect on tryptophan requirement for growth of postweaning piglets? (in French, with English abstract). Journées Rech. Porcine en France. 39, 125-132.

Melchior D, Sève, B, Le Floc'h N, 2004. Chronic lung inflammation affects plasma amino acid concentrations in pigs. J. Anim. Sci. 82:1091-1099.

Melchior D, Mézière N, Sève B, Le Floc'h N, 2005. Is tryptophan catabolism increased under indoleamine 2,3 dioxygenase activity during chronic lung inflammation in pigs? Rep. Nutr. Dev. 45:175-183.

Mellor, A.L., Munn D.A., 1999. tryptophan catabolism and T-cell tolerance: immunosupression by starvation? Immunol. Today 20, 469-473.

Moffett JR, Namboodiri A, 2003. Tryptophan and the immune response. Immunol. Cell. Biol. 81, 247-265.

Pfefferkorn ER, 1984. Interferon gamma blocks the growth of Toxoplasma gondii in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan. Proc. Natl. Acad. sci. USA. 81, 908-912.

Reeds PJ, Fjeld CR, Jahoor F, 1994. Do the differences between the amino acid compositions of acute- phase and muscle proteins have a bearing on nitrogen loss in traumatic states? J. Nutr. 124: 906-910.

Takikawa O, Kuroiwa T, Yamazaki F, Kido R, 1998. Mechanism of Interferon-gamma Action. J. Biol. Chem., 263, 2041-2048.

Corresponding author

Nathalie Le Floc'h
INRA SENAH
35590 Saint Gilles, France
Mail: Nathalie.lefloch@rennes.inra.fr
Fax : 33 223 485 080
Phone : 33 223 485 039

Funktionelle Pflanzenstoffe in der Tierernährung und -gesundheit

Chlodwig Franz

Institut für Angewandte Botanik und Pharmakognosie der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Funktionelle Pflanzenstoffe (bioaktive pflanzliche Sekundärstoffe) spielen nicht nur in der Humanernährung, Gesundheit und Medizin, sondern zunehmend auch in der Veterinärmedizin und Tierernährung eine bedeutende Rolle. Probleme in der Massentierhaltung und in der vorwiegend auf quantitative Leistung orientierten Tierproduktion haben das Bewusstsein sowohl der Erzeuger als auch der Konsumenten geschärft und gezeigt, dass die Qualitätssicherung unbedenklicher, gesunder Lebensmittel tierischer Herkunft neuer Forschungsansätze und Anstrengungen bedarf.

Dem Trend der Humanmedizin und Ernährung in Richtung Phytopharmaka und pflanzlicher Nahrungsergänzungen folgend hat man auch in der Tierernährung und –gesundheit begonnen, sich u.a. wieder verstärkt den pflanzlichen Zusätzen mit Sekundärwirkungen zuzuwenden. Der grundsätzliche Paradigmenwechsel ist daran zu erkennen, dass bis in die 1990er Jahre vorwiegend Primärstoffe (Kohlenhydrate, Fette und Eiweiß), Mineralstoffe und Vitamine im Mittelpunkt ernährungswissenschaftlichen Interesses standen. Heute gewinnen Funktionen an Gewicht, die früher nicht bekannt oder in ihrer Bedeutung nicht zu bewerten waren. Das zeigt sich vor allem am wachsenden Interesse an den Wirkungen sekundärer Pflanzenstoffe, einer ungemein vielfältigen und heterogenen Gruppe von Substanzen, zu deren wichtigsten Vertretern die Carotinoide, Bioflavonoide, Polyphenole und ätherischen Öle zählen. Dabei stellt sich heraus, dass diese Futter- bzw. Zusatz-Inhaltsstoffe weitaus mehr Effekte entfalten können als früher angenommen.

Die zunehmende, teils unkontrollierte Verwendung von immer mehr – auch exotischen – derartigen pflanzlichen Zusätzen hat allerdings die Europäische Kommission zur Herausgabe der Richtlinie Nr. 1831/2003 veranlasst. Ziel dieser einheitlichen Regelung des in-Verkehr-Bringens und der Verwendung von Futterzusätzen ist es, eine Basis für die Sicherung der Gesundheit von Mensch und Tier, aber auch für den Schutz der Umwelt sowie der Anwender und der Konsumenten zu schaffen. Das weitgehende Fehlen von Nutzen-Risiko-Analysen sowie von Daten über das chemische Profil von pflanzlichen Produkten und dessen Variationen in Abhängigkeit von z.B. genetischen Faktoren und Umweltbedingungen, hat die EFSA (FEEDAP-Panel) 2005/06 veranlasst, 30 Modellmonographien von Pflanzen/Kräutern erstellen zu lassen. Diese umfassen neben der exakten Beschreibung der Pflanzenarten und ihrer Inhaltsstoffe u.a. auch deren pharmakologische und toxikologische Eigenschaften, Sicherheitsaspekte für die Ziel-Tierarten, Kenntnisse – so weit vorhanden – über Absorption, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung der Stoffe (ADME) und sonstige Verwendung außerhalb der Tierernährung (Franz et al. 2006, < www.efsa.europa.eu/ >: Scientific Panels, FEEDAP-Panel, Study on the Assessment of Plants/Herbs…). Nachdem sich gezeigt hatte, dass aus lebensmittel- und ernährungswissenschaftlicher Sicht eine Abgrenzung zwischen physiologischer und pharmakologischer Wirkung der pflanzlichen Sekundärstoffe nicht zielführend ist (Hahn u. Hagenmeyer 2007), beschränkt man sich seitens EFSA vorrangig auf die Beurteilung der Sicherheit dieser Stoffe in der Lebensmittel-(Nahrungs-) Kette. Welche sekundären Wirkungen nach derzeitigem Kenntnisstand tatsächlich zu erwarten sind, soll an einigen Beispielen kurz erläutert werden.

Ätherische Öle

Von vielen ätherischen Ölen und deren Komponenten, z.B. den phenolischen Verbindungen Thymol und Carvacrol ist bekannt, dass sie eine starke antimikrobielle Wirkung besitzen. Abgesehen von einer unüberschaubar großen Zahl von in-vitro Untersuchungen gibt es auch einige tierexperimentelle Untersuchungen, die allerdings zu unterschiedlichen Aussagen kommen. So haben z.B. Wald et al. (2002) festgestellt, dass es nur beim Einsatz sehr weniger ätherischer Öle in der Ferkelaufzucht zu Leistungssteigerungen kam, in aller Regel aber bei Konzentrationen schon unter 0,1 % ätherischem Öl im Futter die Akzeptanz verringert war, eine Beobachtung, die auch wir in einem Versuch mit Thymian und Oregano bestätigen konnten (Ungerhofer 2004.) . Sehr positive Effekte haben hingegen Kyriakis et al. (1998) sowie Tsinas et al (1999) mit der Beimengung von bis zu 0,5 kg/t Oregano-Öl zum Futter von Absetzferkeln festgestellt (Tab. 1): nicht nur die Lebendmassezunahme, Futteraufnahme und Futterverwertung der Tiere waren deutlich verbessert, sondern auch die Durchfallsrate und die Mortalität gingen drastisch zurück. In einem Versuch mit Masthühnern konnte Mitsch (2003) des weiteren zeigen, dass mit dem Zusatz geringer Mengen an ätherischer-Öl-Komponenten (Thymol, Carvacrol, Eugenol u.a.) das Vorkommen von *Clostridium perfringens* im Jejunum und Caecum der Tiere deutlich gesenkt wird und nekrotisierende Enteritiden damit reduziert werden konnten.

Tab. 1: Durchfallprophylaxe bei Absetzferkeln durch ätherisches Öl von *Origanum sp.* (S.C. Kyriakis et al. 1998)

	Kontrolle	**0,25 kg / t**	**0,5 kg / t**
		Oregano-Öl	
Lebendmassezunahme (kg)	**3,65**	**4,02**	**4,67**
tägl. Futteraufnahme (g)	**327**	**330**	**364**
Futterverwertungsrate (kg / 1 kg)	**1,80**	**1,67**	**1,64**
Durchfallsrate	**7,1**	**4,3**	**3,1**
Mortalität (%)	**11,1**	**2,8**	**0,0**

Die Werte beziehen sich auf den Zeitraum von Tag 1 bis 21 nach dem Absetzen.

Als Gründe für die oft widersprüchlich erscheinenden Ergebnisse sind einerseits die unterschiedlichen Haltungsbedingungen zu erwähnen: je höher die Stallhygiene, desto geringer sind die Wirkungen von potenziell antimikrobiellen Stoffen. Andererseits ist oft das Ausgangsmaterial nicht exakt definiert und charakterisiert. So konnten wir für die EFSA-Monographie „Oregano" mehr als 50 Pflanzenarten ausfindig machen, welche zwar unter diesem Trivialnamen im Handel sind, aber oft ganz unterschiedliche ätherische Öle besitzen (Tab. 2). Schon in einer früheren Studie konnten wir feststellen, dass verschiedene Origanum-Arten, aber auch Salbeiöle von unterschiedlichen Individuen sich sehr stark in ihrer antibakteriellen Aktivität unterscheiden. (Abb. 1 u. 2).

Tab. 2: Verschiedene Spezies genannt „Oregano" (Franz et al. 2006)

Family	Species	Commercial names found in literature
Labiatae	*Calamintha potosina* Schaf.	oregano de la sierra, oregano, origanum
	Coleus amboinicus Lour. (syn. *C. aromaticus* Benth)	oregano, oregano brujo, oregano de Cartagena, oregano de Espana, oregano Frances
	Coleus aromaticus Benth.	oregano de Espana, oregano, origanum
	Hedeoma floribunda Standl.	oregano, origanum
	Hedeoma incana Torr.	oregano
	Hedeoma patens Jones	oregano, origanum
	Hyptis albida H.B.K.	oregano, origanum
	Hyptis americana (Aubl.) Urb. (*H. gonocephala* Gris.)	oregano
	Hyptis capitata Jacq.	oregano, origanum
	Hyptis pectinata Poit.	oregano, origanum
	Hyptis suaveolens (L.) Poit.	oregano, oregano cimarron, origanum
	Monarda austromontana Epling	oregano, origanum
	Ocimum basilicum L.	oregano, origanum
	Origanum compactum Benth. (syn. *O. glandulosum* Salzm. ex Benth.)	oregano, origanum
	Origanum dictamnus L. (*Majorana dictamnus* L.)	oregano, origanum
	Origanum elongatum (Bonent) Emberger et Maire	oregano, origanum
	Origanum floribundum Munby (*O. cinereum* Noe)	oregano, origanum
	Origanum grosii Pau et Font Quer ex Ietswaart	oregano, origanum
	Origanum majorana L.	oregano
	Origanum microphyllum (Benth) Vogel	oregano, origanum
	Origanum onites L. (syn. *O. smyrneum* L.)	* Turkish oregano, oregano, origanum
	Origanum scabrum Boiss et Heldr. (syn. *O. pulchrum* Boiss et Heldr.)	oregano, origanum
	Origanum syriacum L. var. *syriacum* (syn. *O. maru* L.)	oregano, origanum
	Origanum vulgare L. subsp. *gracile* (Koch) Ietswaart (syn. *O. gracile* Koch, *O. tyttanthum* Gontscharov)	oregano, origanum
	Origanum vulgare subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart (syn. *O. hirtum* Link)	oregano, origanum
	Origanum vulgare subsp. *virens* (Hoffmanns et Link) Ietswaart (syn. *O. virens* Hoffmanns et Link)	oregano, origanum, oregano verde
	Origanum vulgare subsp. *viride* (Boiss.) Hayek (syn. *O. viride* Halacsy (syn. *O. heracleoticum* L.)	* Greek oregano, oregano, origanum
	Origanum vulgare L. subsp. *vulgare* (syn. *Thymus origanum* (L.) Kuntze)	oregano, origanum
	Origanum vulgare L.	oregano, orenga, Oregano de España
	Poliomintha longiflora Gray	oregano
	Salvia sp.	oregano
	Satureja thymbra L.	oregano cabruno, oregano, origanum
	Thymus capitatus (L.) Hoffmanns et Link (syn. *Coridothymus capitatus* (L.) Rchb.f.)	* Spanish oregano, oregano, origanum
Verbenaceae	*Lantana citrosa* (Small) Moldenke	oregano xiu, oregano, origanum
	Lantana glandulosissima Hayek	oregano xiu, oregano silvestre, oregano, origanum
	Lantana hirsuta Mart. et Gal.	oreganillo del monte, oregano, origanum
	Lantana involucrata L.	oregano, origanum
	Lantana purpurea (Jacq.) Benth.& Hook. (syn. *Lippia purpurea* Jacq.)	oregano, origanum
	Lantana trifolia L.	oregano, origanum
	Lantana velutina Mart.&Gal.	oregano xiu, oregano, origanum
	Lippia myriocephala Schlecht.&Cham.	oreganillo
	Lippia affinis Schau.	oregano
	Lippia alba (Mill) N.E. Br. (syn. *L. involucrata* L.)	oregano, origanum
	Lippia Berlandieri Schau.	oregano
	Lippia cardiostegia Benth.	oreganillo, oregano montes, oregano, origanum
	Lippia formosa T.S.Brandeg.	oregano, origanum
	Lippia geisseana (R.A.Phil.) Soler.	oregano, origanum
	Lippia graveolens H.B.K.	* Mexican oregano, oregano cimarron, oregano, origanum
	Lippia helleri Britton	oregano del pais, oregano, origanum
	Lippia micromera Schau.	oregano del pais, oregano, origanum
	Lippia micromera var. *helleri* (Britton) Moldenke	oregano
	Lippia origanoides H.B.K.	oregano, origano del pais
	Lippia palmeri var. *spicata* Rose	oregano
	Lippia palmeri Wats.	oregano, origanum
	Lippia umbellata Cav.	oreganillo, oregano montes, oregano, origanum
	Lippia velutina Mart. et Galeotti	oregano, origanum
Rubiaceae	*Borreria* sp.	oregano, oregano, origanum
Scrophulariaceae	*Limnophila stolonifera* (Blanco) Merr.	oregano, origanum
Apiaceae	*Eryngium foetidum* L.	oregano de Cartagena, oregano, origanum
Asteraceae	*Coleosanthus veronicaefolius* H.B.K.	oregano del cerro, oregano del monte, oregano del campo
	Eupatorium macrophyllum L. (syn. *Hebeclinium macrophyllum* DC.)	oregano, origanum

* Species of main economic importance according to Lawrence and Reynolds (1984)

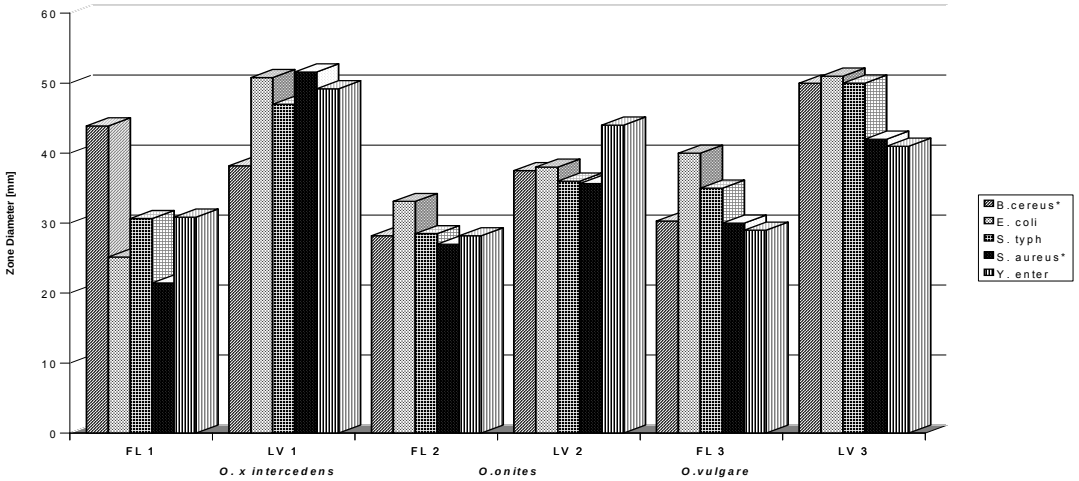


Abb.1: Antibakterielle Aktivität von *Origanum*-Spezies (Quelle: Schlussbericht EU-Projekt FAIR-CT96-1914)

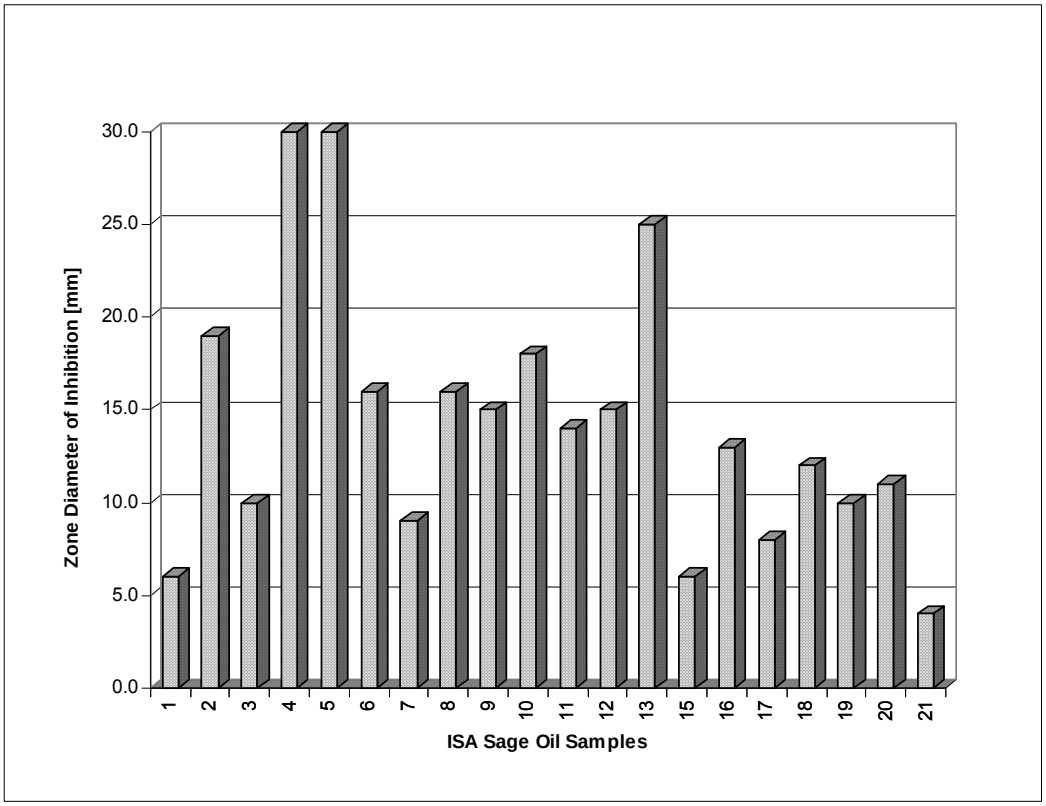


Abb.2: Antibakteriellle Aktivität von Salbei-Öl *(Salvia officinalis)* gegenüber *Escherichia coli (*Quelle: Schlussbericht EU-Projekt FAIR-CT96-1914)

Flavonoide und andere Sekundärstoffe

Silymarin, ein Gemisch aus Flavonolignanen, gilt als bioaktiver Komplex der Früchte von *Silybum marianum* (Mariendistel) mit ausgesprochen guten leberschützenden Eigenschaften: es stimuliert die Hepatocyten-Proteinbiosynthese und die Regeneration von Leberzellen, ebenso wie antioxidative und antitoxische Wirkungen beschrieben sind. Tedesco et al. (2004) haben gefunden, dass Mariendistel-Extrakte bzw. Silymarin effizient hepatoprotektiv bei Milchkühen im Zeitraum um die Kalbung eingesetzt werden können. Stoffwechselproblemen konnte damit vorgebeugt werden, die Milchleistung war etwas erhöht (Tab. 3) und auch die restlichen Parameter waren geringfügig positiv beeinflusst. Schließlich konnten die Autoren zeigen, dass auch ein Detoxifikations-Erfolg gegenüber Aflatoxin im Futter erzielt werden konnte und die Milch geringere Rückstandswerte aufwies.

Tab. 3: Effekt von Silymarin auf die peripartiale Gesundheit und die Milchleistung von Kühen (Tedesco et al. 2004)

	Tag 7	Tag 30	305 d
Kontrolle	**27,9 kg**	**35,4 kg**	**9598 kg**
Silymarin	**30,1 kg**	**40,7 kg**	**9922 kg**

Weitere Effekte:

Fettgehalt geringfügig verringert
Proteingehalt geringfügig erhöht
Body Condition Score geringgradig verbessert
Kein Silymarin in der Milch bei 10 g (!) Tagesdosis

Im EU-Projekt „Rumen-up" wurden an die 500 Pflanzen und Extrakte auf ihre Fähigkeit, die Methan- und N_2-Emission von Wiederkäuern zu reduzieren, getestet. 20 Pflanzenarten (Tab. 4) konnten als in dieser Hinsicht aussichtsreich identifiziert werden (Wallace et al. 2005). Die Sekundärstoff-Untersuchungen und Stoff-Wirkungs-Beziehungen fehlen aber leider bei diesem rein bakteriologisch aufgebauten Screening.

Tab. 4: Neue Pflanzen und -Extrakte zur Methan- u. N_2 – Emissionsreduktion von Wiederkäuern: Das „Rumen-up"-Projekt (R.J. Wallace et al 2005)

Pflanzenname lat.	deutsch (verwendeter Teil)	mögl. Anwendung bei/gegen/zu	Human-Indikation (volksmed.)
Arctostaphylos uvae-ursi	Bärentraube (Blätter)	Proteolyse (Eiweißverd.)	Harndesinfiz.
Bellis perennis	Gänsebl. (Kraut)	Protozoen	(Wundheilmittel)
Carduus pycno.	Knaulkopfdistel	Methanprod.	-
Epilobium mont.	Berg-Weidenrös.	Proteolyse	(Magen-Darm)
Syzygium arom.	Gewürznelke	Protozoen	antimikrobiell
Gentiana lutea	Gelber Enzian	Protozoen	verdau.fördernd.
Helianth.canum	Sonnenröschen	Proteolyse	-
Knautia sp.	Witwenbl. (Kraut)	Proteolyse	verdau.fördernd
Lactuca sativa	Kopfsalat (Kraut)	Acidose	verdau.fördernd

Tab. 4 (Forts.): Neue Pflanzen und -Extrakte zur Methan- u. N_2 – Emissionsreduktion von Wiederkäuern: Das „Rumen-up"-Projekt (R.J. Wallace et al 2005)

Lonicera japonica	Heckenkirsche	Protozoen	_
Olea europaea	Ölbaum/Olive	Protozoen	cholesterinsenk.
Paeonia alba	Pfingstrose	Methanprodukt.	Magen-Darm
Podophyllum pelt.	Fußblatt	Proteolyse	Leber u. Galle
Populus tremula	Zitterpappel	Methanprodukt.	antibakteriell
Prunus avium	Vogelkirsche	Methanprodukt.	_
Rheum nobile	Med.Rharbarber	Methanprodukt.	Abführmittel
Salix caprea	Sal-Weide	Methanprodut.	fiebersenk., entz.hemm.
Symphytum off.	Beinwell	Protozoen	Magen-Darm
Urtica dioica	Brennessel	Acidosis	harntreib.

Reststoffe aus der Pflanzenextraktion

Einen interessanten Ansatz bietet die Verwertung von Reststoffen aus der Kräuterextraktion sowie der Obst- und Gemüseverarbeitung, da in diesen noch eine Reihe wertvoller Substanzen wie Polyphenole, Flavonoide, Terpene und Galakturonide enthalten sein können. Erste Ergebnisse aus dem EU-Projekt „Safewastes" haben gezeigt, dass manche dieser Reststoffe aus z.B. Artischocke, Kürbis oder Mango die Adhäsion pathogener Keime an die Darmwand verhindern können (Becker und Galletti 2007) oder zu einer Reduktion der Methangasproduktion von Wiederkäuern führen. Diese Ergebnisse sind in Analogie zu früheren Untersuchungen mit Karottenpektinen zu sehen, welche die Fimbrien von *E. coli* blockieren und somit eine Ausschwemmung der pathogenen Mikroorganismen aus dem Darm hervorrufen (Guggenbichler et al. 2004).

Abgesehen von den unmittelbaren Leistungsparametern, auf welche sich die meisten Publikationen beschränken, sind die **Sekundäreffekte der bioaktiven Stoffe** zu nennen: hierzu zählen neben den schon erwähnten Leberschutzwirkungen der Silymarine vor allem die antioxidativen Eigenschaften vieler ätherischer-Öl-Komponenten und Polyphenole. Nach Zufütterung von 1 % Kräutern (Salbei, Oregano) in der Endmast von Schweinen haben Bauer et al. (2001) den Speck sofort nach der Schlachtung und nach 6-monatiger Lagerung untersucht (Abb. 3). Dabei stellte sich heraus, dass in der unbehandelten Variante bei Salbei-Zusatz der Gehalt an toxischen Cholesterin-Oxiden deutlich angestiegen war, in der Oregano-Variante (und beim Gemisch Oregano-Salbei) hingegen die Bildung der Oxide weitgehend unterblieb. Ähnliche Ergebnisse konnten erst unlängst Jordan et al. (2007), Monino et al (2007) und Martinez et al. (2007) erzielen. Sie verfütterten Destillations-Rückstände von Rosmarin und Thymian an kleine Wiederkäuer und fanden eine erhöhte antioxidative Aktivität in der Ziegenmilch, im Blutplasma der saugenden Kitze, im Ziegenkäse und – bei einem weiteren Versuch – im Lammfleisch, das damit eine höhere Lagerstabilität aufwies. Im Vergleich zu den Kontrollen waren die Stoffkonzentrationen bzw. antioxidativen Aktivitäten im geringsten Fall um 20-25 %, im höchsten Fall auf das 3-fache erhöht. Auch von den Materialien des Safewastes-Projekts (www.safewastes.info) weisen einige Reststoffe wie Traubenkerne oder Olivenrückstände trotz vorangegangener Extraktionen noch eine bemerkenswerte antioxidative Aktivität auf. Derartige Ergebnisse gilt es kritisch zu bewerten und gegebenenfalls zu nutzen.

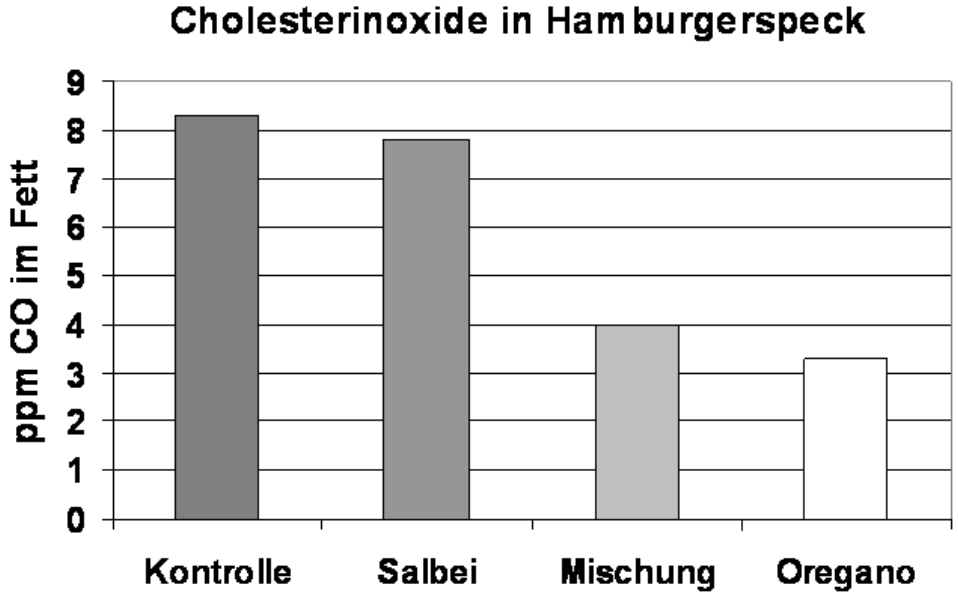


Abb. 3: Kräuter als Futterzusatz in der Schweinemast (1 % Kräuterzusatz, 6 Monate Lagerung), (Bauer, Luf et al. 2001)

Zusammenfassung

Die Verwendung pflanzlicher Drogen und Extrakte in der Tierhaltung und Veterinärmedizin ist so alt wie die Haltung von Nutztieren. Im 20. Jahrhundert wurden die Pflanzenstoffe zunächst durch synthetische Chemikalien ersetzt, um erst im letzten Jahrzehnt wieder eine Renaissance zu erleben. Gründe dafür sind Probleme in der Massentierhaltung mit der mittlerweile verbotenen Verwendung antibiotischer Leistungsförderer, aber auch die bessere Kenntnis über die Funktionalität pflanzlicher Sekundärstoffe. Neben dem Einsatz der Leistungsförderer stehen deshalb antioxidative und antimikrobielle Effekte von Pflanzenextrakten im Vordergrund, welche die Tiergesundheit fördern und zu einer Risikominimierung bzw. Qualitätssteigerung in der Nahrungskette führen sollen.

Literatur

Bauer F., Luf W. (2002): Antioxidative Effects of Herbs in meat products II – slow down in fat changes. 1st European Symposium on Bioactive Secondary Plant Products in Veterinary Medicine, 4.-5.10.2002, Vienna, p. 15

Becker P.M., Galetti S. (2007, in proof): Food and Feed components for alternative adhesion of intestinal E. coli, Salmonella and Lactobacillus.

Franz Ch., Bauer R., Carle R., Tedesco D., Tubaro A. and Zitterl-Eglseer K. (2006): Assessment of Plants/Herbs, Plant/herb Extracts and their naturally or synthetically produced components as „Additives" for Use in Animal Production. CFT/EFSA/FEEDAP/2005/01, 297 p.

Guggenbichler J.P., Follrich B., Franz Ch., Jurenitsch J. (2004): Einsatz von Antibiotika in der Nutztierhaltung: Ersatz durch saure Oligogalakturonide. Antibiotika Monitor XX, 93-101

Hahn A., Hagenmeyer M. (2007): Nahrungsergänzungsmittel und diätetische Lebensmittel. Dtsch. Apoth. Ztg. 147, 1918-29

Jordan M.J. et al. (2007): Murciano-Granadina goat feeding with aromatic plant by-products. Effect on the milk production and presence of polyphenols in "Al Vino" Murciano goat cheese. Planta Med. 2007; 73: 922, P321

Kyriakis S.C., Sarris K., Lekkas S., Tsinas A.C., Giannakopoulos C., Alexopoulos C., Saoulidis K. (1998): Control of post weaning diarrhoea syndrome of piglets by in-feed application of Origanum essential oils. Proc. 15th IPVS Congress, Birmingham, England p. 218

Martinez C. et al. (2007): Identification of polyphenolic components in Murciano-Granadina goat milk and suckling goat kid plasma. Planta Med. 2007; 73: 923, P323

Monino Ml. et al. (2007): Segurena sheep feeding with the distillate from rosemary (Rosmarinus officinalis L.). Polyphenolic components in lamb meat and their effect on the meat stability. Plant Med. 2007; 73: 922, P322

Tsinas A.C., Giannakopoulos C.G., Papasteriades A., Alexopoulos C., Mavromatis J., Kyriakis S.C. (1998): Use of origanum Essential Oils as Growth Promoter in Pigs. Proc. 15th IPVS Congress, Birmingham, England, p. 221

Ungerhofer E (2004): Thymus vulgaris L. und Origanum vulgare L. als Futteradditiv für Absetzferkel in Futterakzeptanzversuch. Diss. Vet. Med. Univ. Wien

Wald Ch., Kluth H., Rodenhutscord M. (2002): Oregano in den Schweinetrog. dz 1/2002, 116 ff

Wallace R.J. et al. (2005): "Rumen-up": new plants and plant extracts to decrease methane and nitrogenous emissions from ruminants and to alleviate nutritional stress. Antimicrobial Growth Promoters: Worldwide Ban on the Horizon? 31.1.-1.2.2005, NL, p. 110

Autorenanschrift

O. Univ.-Prof. DI Dr. Chlodwig FRANZ
Institut für Angewandte Botanik und Pharmakognosie der Veterinärmedizinischen Universität Wien
Veterinärplatz 1
A-1210 Wien
e-Mail: chlodwig.franz@vu-wien.ac.at

Aktuelle Themen zum Futtermittelrecht

Veronika Kolar[1], Herbert Würzner[1]

[1]Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Wien

Im Jahr 2007 gab es im Futtermittelrecht nur sehr wenige Neuerungen. Es soll daher auf folgende Themen näher eingegangen werden:

- Futtermittelhygieneverordnung VO(EG)183/2005
- Das Europäische Schnellwarnsystem, Drittländervertretung, Umwidmungen
- Kommissionsregister für Futterzusatzstoffe gemäß VO(EG)1831/2003
- Phasing Out von Kokzidiostatika
- Kennzeichnung von Mischfuttermitteln, „Offene Deklaration"
- EU Inspektionen in Österreich

Futtermittelhygieneverordnung, VO(EG)183/2005

Die mit 1.1.2006 in Kraft getretene Futtermittelhygieneverordnung VO(EG)183/2005 brachte wesentliche Änderungen für die Futtermittelhygiene. Um ein möglichst hohes Schutzniveau für die Gesundheit von Mensch und Tier zu erreichen, muss dabei die gesamte Nahrungs- und Futtermittelkette geschlossen berücksichtigt werden.

Die Futtermittelhygieneverordnung umfasst alle Produktions-, Verarbeitungs- und Vertriebstufen von Futtermitteln. Viele Begriffe wurden darin neu definiert, z.B. Futtermittelunternehmer, In-Verkehrbringung. Demnach sind neben Futtermittelherstellern, auch Futtermittelhändler, Primärproduzenten (Landwirte), Lagerhalter, Transporteure und Spediteure, mobile Mischer, aber auch Tierärzte und Apotheken, die Nutztierfutter vertreiben, verpflichtet sich als Futtermittelunternehmer registrieren zu lassen. Die Verordnung gilt für Futtermittelunternehmer, die Futtermittel für landwirtschaftliche Nutztiere – einschließlich Pferde, unabhängig von einer Eintragung in den Equidenpass – herstellen oder in Verkehr bringen. Ausgenommen von dieser Regelung sind u. a. der Einzelhandel mit Heimtierfutter, die Futtererzeugung von zum privaten Eigenverbrauch oder nicht zur Lebensmittelerzeugung bestimmter Tiere sowie Kleinmengenlieferungen zwischen Landwirten auf örtlicher Ebene.

Alle Futtermittelunternehmer, ausgenommen die Primärproduktion, müssen gemäß Anhang II dieser Verordnung ein schriftliches, auf HACCP Grundsätzen beruhendes Verfahren einrichten, durchführen und aufrechterhalten. Für die Primärproduktion gelten die Anforderungen in Anhang I dieser Verordnung, für die Verfütterung gilt die Gute Tierfütterungspraxis laut Anhang III.

Generell müssen sich **alle Futtermittelunternehmer** auf allen Stufen der Herstellung, Verarbeitung, Lagerung, Transport und Vertrieb von Futter- und Lebensmitteln beim Bundesamt für Ernährungssicherheit (BAES) melden und registrieren lassen.

Gemeinschaftliche Leitlinien für die gute Praxis

Auf gemeinschaftlicher Ebene wurden harmonisierte Leitlinien (Community Guides to Good Practice) gemäß Artikel 22 der VO(EG) 183/2005 für die gute Verfahrenspraxis (GMP) für die einzelnen Bereiche der Futtermittelwirtschaft (Zusatzstoffe u. Vormischungen, Mischfutter, Heimtierfutter) von den jeweiligen Interessensvertretern (FAMI-QS, FEFAC, FEDIAF) und der Kommission erarbeitet. Die Leitlinien werden im Amtsblatt der C der Europäischen Kommission veröffentlicht.

Community Guide to Good Practice for Feed Additives and Premixture Operators:

European Feed Manufacturers´Guide der FEFAC:

Guide to Good Practice for the Manufacture of Safe Pet Foods:

Liste der registrierten und zugelassenen Betriebe

Für Hersteller von Zusatzstoffen, Vormischungen oder Mischfutter mit bestimmten Zusatzstoffen ist nach wie vor eine Zulassung nach Richtlinie 95/69 EG erforderlich. Diese Zulassung erfolgt mittels Bescheid nur nach einer Vor Ort Kontrolle und Prüfung der Einhaltung aller Anforderungen.

Die Zulassung bzw. Registrierung kann jederzeit geändert, ausgesetzt oder entzogen werden, wenn die Anforderungen nicht erfüllt werden. Der Bezug von Futtermitteln ist nur von zugelassenen bzw. registrierten Betrieben erlaubt. Das Bundesamt für Ernährungssicherheit (BAES) führt ein Verzeichnis mit allen registrierten und zugelassenen Betrieben, das übers Internet abrufbar ist.

Drittländervertretung, „Umwidmungen" von Chemikalien in Zusatzstoffe

Futtermittel, die aus Drittländern (= Nicht EU Ländern) importiert werden, müssen den Anforderungen der Europäischen Union entsprechen. Es sind Listen mit Drittländern und zulässigen Drittlandsbetrieben in Arbeit. Bis auf weiters gelten die Vertreter-Regelungen nach Richtlinie 98/51/EG. In den letzten zwei Jahren traten gehäuft Meldungen im Europäischen Schnellwarnsystem über verschiedene Futtermittel aus China auf (z.B. Cadmium in Zinkoxid, Dioxin in Kupfersulfat oder Melamin in verschiedenen Proteinkonzentraten), die in der EU teils zu großen wirtschaftlichen Schaden in der Futtermittelbranche führten. Verantwortlich hierfür sind einerseits kriminelle Aktivitäten (Melamin), andererseits auch fahrlässige „Umwidmungen" von Labor-Chemikalien (technical grade) in Futtermittelzusatzstoffe (feed grade). Der Importeur der Ware bzw. Drittlandsvertreter ist in diesem Fall für die Schäden solcher Futtermittel verantwortlich.

Das europäische Schnellwarnsystem für Lebens – und Futtermittel (RASFF), Rapid Alert System for Food and Feed

Das EU-Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel (RASFF) wurde im Jahr 1999 eingerichtet. Ziel war es, die nationalen Kontrollbehörden mit einem effektiven Informationswerkzeug über getroffene Maßnahmen zur Gewährleistung der Lebensmittelsicherheit auszustatten. Die AGES ist seit Februar 2002 Kontaktstelle für alle Futtermittelbelange (Feed) and seit 1.3.2007 für den Lebensmittelbereich (Food). Die beiden nationalen Kontaktpunkte sind via Internet mit der Zentrale in Brüssel verbunden und sind im Fall von Krisensituationen direkt mit den Entscheidungsträgern der beiden Ministerien BMGFJ und BMLFUW kurzgeschlossen. Der gesetzliche Hintergrund zur Errichtung eines Schnellwarnsystems ist in der Verordnung (EG)178/2002 („General food law") verankert, worin allgemeine Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, die Errichtung einer europäischen

Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), sowie Verfahren zur Lebensmittelsicherheit festgelegt werden. Folgende Meldungen werden regelmäßig elektronisch übermittelt:

1. Warnmeldungen (Alert notifications),
2. Informationsmeldungen (Information notifications)
3. News-Meldungen (News)
4. Wochenmeldungen

Warnmitteilungen (Alert notifications) werden versendet, wenn ein Risiko für ein bereits am Markt befindliches Lebensmittel oder Futtermittel besteht und umgehender Handlungsbedarf erforderlich ist. Warnmeldungen werden vom jeweiligen Mitgliedstaat ausgeschickt, der das Risiko aufgedeckt und entsprechende Maßnahmen wie z. B. eine Sperre oder Rückholung der Ware veranlasst hat. Ziel ist es, alle Mitgliedstaaten rasch und gleichzeitig über das Internet zu informieren. Die Mitgliedstaaten können danach selbst prüfen, ob sich das betroffene Produkt auch am heimischen Markt befindet und ob notwendige Schritte zur Futtermittelsicherheit zu veranlassen sind. Die Mitgliedstaaten entscheiden selbst, wie solche Maßnahmen auf nationaler Ebene ausgeführt werden, auch ob detaillierte Information an die Medien weitergegeben werden.

Informationsmitteilungen (Information notifications) werden veröffentlicht, wenn für Lebensmittel oder Futtermittel zwar ein Risiko bestehen würde, aber das Produkt nicht auf den Markt gekommen ist. Diese Meldungen betreffen meistens Lieferungen, die aufgrund einer Grenzkontrolle an einer Außengrenze der EG abgewiesen wurden. Sofortmaßnahmen sind hier nicht erforderlich.

News – Meldungen sind sämtliche weiteren Informationen, die nicht als Warn- oder Informationsmeldung veröffentlicht wurden, jedoch für die Kontrollbehörden relevant sein könnten.

Wochenmeldungen werden wöchentlich als Übersicht über alle Meldungen ins Internet gestellt. Handelsnamen und Identität der betroffenen Firmen werden hier nicht bekannt gegeben. Die Kommission gibt darüber hinaus aus Gründen der Vertraulichkeit keine Informationen weiter. Informationen werden nur zwischen den nationalen Kontaktpunkten und der Zentrale in Brüssel ausgetauscht.

Die Kommission informiert einen Drittstaat dann, wenn ein Futter in einen Drittstaat exportiert oder aus solchem importiert wurde. Dadurch sollen im Ursprungsland Wiederholungsfälle durch geeignete Gegenmaßnahmen verhindert werden.

EU-Antragsländer (Türkei, Kroatien, Mazedonien), andere Drittstaaten oder internationale Organisationen können sich im Einvernehmen und unter Einhaltung bestimmter Abmachungen (z. B. Vertraulichkeit) am Schnellwarnsystem beteiligen.

Über 95% der Meldungen betreffen den Lebensmittelsektor.

Im Jahren 2006 und 2007 traten am Futtersektor einige Fälle größeren Ausmaßes auf: Dioxin in Schweinefett aus Belgien, Cadmium in Zinksulfat aus China, Aflatoxin B1 in Hundefutter aus den USA und Melamin in verschiedenen Proteinkonzentraten aus China.

Gemeinschaftsregister (Auflistung der notifizierten Zusatzstoffe)

Das Register der Europäischen Kommission über notifizierte Zusatzstoffe gemäß VO(EG)1831/2003, kurz Gemeinschaftsregister, wurde erstmals im November 2005 veröffentlicht. Alle darin gelisteten Zusatzstoffe müssen bis 2010 von der Europäischen Behörde für Lebensmitelsicherheit (EFSA, European Food Safety Authority) neu bewertet werden. Die letzte Version stammt vom 16. Juli 2007. Neue, darin nicht notifizierte Zusatzstoffe unterliegen dem Zulassungsverfahren der Zusatzstoffverordnung VO(EG)1831/2003 und müssen somit völlig neu beantragt werden. Obgleich das Register nur in englischer Sprachfassung erhältlich ist, erweist es sich für die Kontrollbehörde als eine enorme Hilfestellung bei der Einstufung der Verkehrsfähigkeit v.a. von Kräutern, Gewürzen, Aromastoffen oder Silierzusatzstoffen, die vorher illegal oder als Grauzonenprodukt ihr Dasein fristeten. Alle im Register gelisteten Zusatzstoffe sind bis zum 7.11.2010 in der EG verkehrsfähig. Für die Sicherheit ist bis zur Bewertung und Stellungnahme durch die EFSA der Futtermittelunternehmer jedoch selbst verantwortlich.

Phasing Out von Kokzidiostatika

Antibiotika dürfen bereits seit 1.1.2006 als Futtermittelzuatzstoffe nicht mehr in Verkehr gebracht und angewendet werden. Dies betraf zuletzt nur noch vier Antibiotika (Flavophospholipol, Monensin-Natrium, Salinomycin-Natrium und Avilamycin).

Für Kokzidiostatika, die noch als Futterzusatzstoffe zugelassen sind, gilt derzeit eine Übergangslösung. Die Europäische Kommission wird dem Europäischen Parlament und dem Rat bis zum 1.1.2008 einen Bericht über Verwendung, Mengenverbrauch von Kokzidiostatika in der EG, verfügbare Alternativen inklusive Vorschläge zum weiteren Vorgehen (z.B. Vakzination, Hygieneprogramm, Kompensation für Ausfälle) vorlegen, und zwar im Hinblick auf eine Entscheidung über die Einstellung der Verwendung der Kokzidiostatika und Histomonostatika als Futtermittelzusatzstoffe bis zum 31.12.1012. Diese Entscheidung betrifft jedoch nicht die veterinärmedizinischen Arzneimittelspezialitäten, die zur therapeutischen Anwendung zugelassen sind. Die österreichische Geflügelwirtschaft und die Futtermittelindustrie haben sich offiziell gegen eine Abschaffung von Kokzidiostatika als Futtermittelzusatzstoffe ausgesprochen.

Kennzeichnung von Mischfuttermitteln, „Offene Deklaration"

Mit dem EuGH Urteil vom 06.12.2005 (AktenzeichenC-453/03) wurde die offene Deklaration bei der Kennzeichnung von Mischfuttermitteln bestätigt. Der Satz über die zusätzliche Auskunftspflicht des Herstellers zur genauen Zusammensetzung entfällt jedoch. Derzeit gilt noch, dass die prozentmäßige Angabe aller Futtermittelausgangserzeugnisse (± 15%) bestehen bleibt und eine Angabe in Kategorien für Nutztiere nicht mehr zulässig ist. Für Heimtiere ist die Angabe in Kategorien weiterhin möglich.

In Österreich plädiert man für eine halboffene Deklaration, d.h. Angabe aller Futtermittelausgangerzeugnisse in absteigender Reihenfolge ihrer Anteile, jedoch ohne Prozentangaben. Weitere Diskussionen und eventuell ausstehende Entscheidungen auf europäischer Ebene darüber sind im Gange.

Erleichterungen bei der In-Verkehrbringung und Kennzeichnung von Mischfuttermitteln sind geplant, der allgemeine Teil der Kennzeichnungsbestimmungen wird derzeit noch überarbeitet.

Folgende Ausnahmebestimmungen werden weitgehend von den alten Vorgaben übernommen:

1. Verzicht auf bestimmte, zusätzliche Angaben, wenn der Käufer diese für die Kennzeichnung nicht fordert.
2. Das Mindesthaltbarkeitsdatum kann an einer beliebigen Stelle der Verpackung angebracht werden (Deckel, Boden, Steg).
3. Keine Kennzeichnung ist für den lokal-regionalen Handel zwischen Landwirten notwendig (Heu, Getreide, usw.).
4. Bei losen Lieferungen gelten die Angaben auf den Begleitdokumenten als Kennzeichnung.
5. Lose Kleinmengen bis 20 kg, die an einen Endverbraucher abgegeben werden, brauchen keine Kennzeichnung.
6. Bei Mischfutter aus max. 3 Futtermittel-Ausgangserzeugnissen kann die Angabe der Tierart und Fütterungsanleitung entfallen.
7. Die Angabe der analytischen Bestandteile kann bei ganzen Körnern entfallen.

EU Inspektionen in Österreich

Im laufenden Jahr fanden in Österreich insgesamt drei EU Inspektionen mit Bezug auf Futtermittel statt. Die erste Inspektion im Jänner beinhaltete als Schwerpunkt die Evaluierung des amtlichen Kontrollsystems für Lebens- und Futtermittel sowie Saatgut, die aus GVO bestehen oder hergestellt werden. Die Inspektion im Mai beinhaltete eine Beurteilung der Durchführung von Gesundheitsbestimmungen hinsichtlich tierischer Nebenprodukte.

Die letzte Inspektion fand vom 4.9 bis 12. 9.2007 statt und prüfte die Umsetzung von Maßnahmen, die die amtliche Futtermittelkontrolle betreffen sowie die Einhaltung der Anforderungen der Futtermittelhygiene.

http://europa.eu/index_de.htm

http://recht.lebensministerium.at/article/archive/5461

http://www.fami-qs.org/EU%20Guide%20V2%20final.pdf

http://www.fefac.org/code.aspx?EntryID=265

http://www.fediaf.org/zentree.htm

http://www.ages.at/servlet/sls/Tornado/web/ages/content/1BA39ACE9623B758C1256EC300318836

http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/registeradditives_en.htm

Literatur

Verordnungen, Richtlinien, Empfehlungen, Gesetze:
VO(EG) 2/2002
VO(EG) 178/2002
VO(EG) 1831/2003
VO(EG) 183/2005

Anschrift der korrespondierenden Autoren

Dipl.-Ing. Mag. Veronika Kolar, Univ.-Doz. Dr. Herbert Würzner
Institut für Futtermittel, Abteilung Futtermittelüberwachung
Bereich Landwirtschaft
Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit,
Bundesamt für Ernährungssicherheit
Spargelfeldstrasse 191 , A-1226 Wien
e-mail: veronika.kolar@ages.at,

Omega-3 Fettsäuren in der Sauenfütterung: Fettsäurenstatus der Saugferkel in Zusammenhang mit einem sich entwickelnden Immunsystem

C. Binter[1], A. Khol-Parisini [1,2], W. Gerner[3], K. Schäfer[2] , Christine Leeb[4], H. Hulan[5], A. Saalmüller[3], J. Zentek[1,2]

[1]Institut für Ernährung , Veterinärmedizinische Universität Wien
[2]Institut Tierernährung, Freie Universität Berlin
[3]Institutfür klinische Immunologie, Veterinärmedizinische Universität Wien
[4]Lehr- und Forschungsgut Kremesberg, Veterinärmedizinische Universität Wien
[5]Department of Biochemistry, Memorial University, St. John´s,Newfoundland

Einleitung

Die Ernährung der Muttersauen kann die Vitalität und die weitere Entwicklung der neu geborenen Ferkel signifikant beeinflussen. Fette sind von besonderem Interesse, da sie energiereich sind und das Fettsäurenmuster in Organen und Geweben sowie auch in der Muttermilch verändern. N-3-Fettsäuren liefern nicht nur Energie, sondern haben auch nachhaltigen Einfluss auf das Immunsystem. Die Wirkung von langkettigen mehrfach ungesättigten n-3-Fettsäuren, dazu zählen Eicosapentaen- (C20:5n-3, EPA), Docosapentaen- (C22:5n-3, DPA) und Docosahexaensäure (C22:6n-3,DHA), wurde bei verschiedenen Erkrankungen mit immunologischer Dysregulation, z.B. Allergien und Autoimmunerkrankungen, beschrieben (CALDER, 2001).

Neugeborene Ferkel haben einen sehr geringen Körperfettanteil, und ihre Überlebenschance sinkt drastisch, wenn keine adäquate Kolostrumaufnahme erfolgt. Bislang sind erst wenige Studien vorhanden, die sich mit der Thematik der Zufuhr von mehrfach ungesättigten n-3-Fettsäuren in der maternalen Diät und daraus resultierenden Veränderung im Fettsäurenstatus von lymphatischem Gewebe bei Neugeborenen befassen. Darüber hinaus stellt sich die Frage, wie sich die Dynamik der Fettsäureneinlagerung in der frühen postnatalen Phase gestaltet und ob Veränderungen des Fettsäurenprofils auch das Immunsystem betreffen.

Es ist bekannt, dass der Transfer von Fettsäuren in Richtung des Fötus limitiert ist und Linol- (C18:2n-6, LA) und α-Linolensäure (C18:2n-3, ALA) geringer über die Plazenta aufgenommen werden als Arachidonsäure (C20:4n-3, ARA) und DHA (LESKANICH u. NOBLE, 1999; FRITSCHE et al., 1993). Die Konzentration an Fettsäuren im Sauenblut kann durch einen höheren Fettanteil in der Ration beeinflusst werden (ROOKE et al., 2001a). Durch die Verabreichung von Fischölen kann der Anteil an langkettigen n-3-Fettsäuren im Sauenblut erhöht und der n-6 Anteil reduziert werden. Diese Verschiebung ist weitgehend abhängig von der Menge an n-3-Fettsäuren in der Sauenration und der Zeit, über welche die n-3 Diät vorgelegt wird (ROOKE et al., 2001a u. b; FRITSCHE et al., 1993). Die Fettsäurenmenge des fötalen Plasmas scheint auf Veränderungen des Fettanteils in der Sauendiät nicht nachhaltig zu reagieren, wohl aber lässt sich das Fettsäurenmuster von der Fettquelle beeinflussen (TILTON et al., 1999).

Auch das Fettsäurenmuster der Sauenmilch kann über die Fütterung beeinflusst werden. Sauenfütterung mit verschiedenen Fetten wie Tierfett, Rapsöl, Fischöl, Kokosnussöl, Palmöl und

Sonnenblumenöl resultierte in einer Veränderung des Fettsäurenmusters entsprechend der Ölquelle (LAURIDSEN u. DANIELSEN, 2004). Durch die Aufnahme des fettreichen Kolostrums bzw. der fetthaltigen Milch erhöht sich der Fettgehalt des Ferkels nach der Geburt deutlich.

Immunmodulatorische Wirkungen von n-3-Fettsäuren sind beim Menschen und vielen Tierspezies beschrieben und in zahlreichen Übersichtsarbeiten, z.B. von POMPÉJA et al. (2000), CALDER et al. (2002) und SWITZER et al. (2004), zusammengefasst. Die am häufigsten berichteten Effekte von langkettigen n-3-Fettsäuren im Zusammenhang mit dem Immunsystem sind eine verminderte Lymphozytenstimulierbarkeit (ex vivo, Mitogen-induziert), eine verminderte Interleukin-2 Produktion und eine verminderte Synthese von Prostaglandinen, Leukotrienen und Tromboxanen.

Die vorliegende Arbeit untersucht einige Fragen der maternalen und fötalen bzw. neonatalen Interaktion im Fettsäurenstoffwechsel in Zusammenhang mit langkettigen, mehrfach-ungesättigten Fettsäuren sowie etwaige Zusammenhänge in den Entwicklungsvorgängen des Immunsystems von Ferkeln während der Säugezeit.

Material und Methoden

Die Rationen für die Sauen (n= 2 Sauen/Gruppe) waren bis auf die Ölquelle in ihrer Zusammensetzung identisch. Die Versuchsgruppe (VG) enthielt als Fettquelle Robbenöl und die Kontrollgruppe (KG) Sonnenblumenöl. Mit Feststellung der Trächtigkeit wurde eine Getreidemischration mit 3 % Ölanteil gefüttert und post partum erhielten die Tiere eine Laktationsdiät mit 5 % Ölanteil (Tabelle 1). Die Saugferkel (n=16/Gruppe) konnten ausschließlich Milch des Muttertieres aufnehmen. Es wurde in der gesamten Versuchszeit kein zusätzliches Futter angeboten.

Für die Gesamtfettsäurenanalyse von Kolostrum/Milch wurde die Methode von LOPEZ-LOPEZ et al. (2001) angewendet. In thermostabilen Gefäßen wurden Kolostrum/Milch mit einen internen Standards (C13:0, Tridecansäure) und Methanol-Toluol (4:1, v:v) zusammengeführt. Unter dem Abzug wurde langsam und vorsichtig Acetylchlorid dazugegeben, im Wasserbad Anschließend wurde das Gefäß mit BTFE/Butyl Bördelkappen verschlossen und in einem auf 70 °C temperierten Wasserbad (Julabo) inkubiert. Danach wurde eine 6 %igen K2CO3 Lösung zum Stoppen der Reaktion zugeführt und die Toluolphase in den Gaschromatographen (Agilent 6890N Network GC System) injiziert. Für die Aufarbeitung vom lymphatischen Gewebe der Ferkel (Thymus, Milz und Mesenteriallymphknoten) und Leber wurde die Methode von SCHÄFER (1998) angewendet. Das Organmaterial wurde gefriergetrocknet und anschließend mit Hexan-Isopropanol (2:3, v:v) versetzt. Aliquot des Überstandes wurde mit Standardlösung (C13:0, Tridecansäure) und TMSH zusammengeführt und anschließend in die GC injiziert. Die Identifikation der einzelnen Fettsäuren erfolgte durch ihre Retentionszeit. Durch die Mitführung eines internen Standards konnte auch eine quantitative Aussage gemacht werden.

Das Blutbild von den Sauen und Ferkeln wurde mit einem Durchflusszytometer (ADVIA 120, Bayer, Leverkusen, Deutschland) erstellt. Für die Phänotypisierung von Leukozyten aus Blut sowie primär und sekundär lymphatischen Gewebe wurde nach dem Protokoll von SOLANO-AGUILAR et al. (2000) gearbeitet. Zur Messung und Auswertung wurde ein Durchflusszytometer FACSAria (Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) verwendet. Die weitere Ausarbeitung erfolgte an einem Personal Computer mit dem Programm BD FACSDiva Software (BD FACSDiva Version 4.1.1). Es wurde der prozentuale Anteil von CD21+ B-Lymphozyten und CD4+ und CD8+ T-Zellen am Anteil der gemessenen Ereignisse bestimmt.

Tab. 1: Futterzusammensetzung der Trächtigkeits- und Laktationsdiät der Sauen

	Trächtigkeitsdiät		Laktationsdiät	
Futtermittel (%)	KG	VG	KG	VG
Gerste	20	20	20	20
Hafer	18,7	18,7	-	-
Weizen	-	-	35	35
Weizenkleie	18	18	10	10
Grünmehl	12	12	-	-
Sojaextraktionsschrot	8,5	8,5	25	25
Trockenschnitzel	18,4	18,4	-	-
Sonnenblumenöl	3	-	5	-
Robbenöl	-	3	-	5
Futterkalk	-	-	0,5	0,5
Dikalziumphosphat	-	-	0,5	0,5
Schaumaphos Z*	1,2	1,2	3	3
Viehsalz	0,2	0,2	1	1
BHT	150 mg/kg	150 mg/kg	150 mg/kg	150 mg/kg

*pro kg: 22% Ca, 6,8% P, 5% Na, 2% Mg, 600 000I.E. Vit A, 50 000I.E. Vit D3, 2 000 mg Vit E, 100 mg Vit K, 100 mg Vit B1, 220 mg Vit B2, 600 mg Pantothensäure, 1000 mg Niacin, 13 700 mg Cholinchlorid, 150 mg Vit B6, 2 500 µg Vit B12, 7000 µg Biotin, 75000 µg Folsäure, 2000 mg Vit C, 3000 mg Fe, 450 mg Cu, 3000 mg Zn, 2000 mg Mn, 80 mg I, 11 mg Se

Ergebnisse

Das Fettsäurenmuster von Kolostrum und Milch der Sauen waren deutlich von der Diät beeinflusst. Das lymphatische Gewebe der Ferkel konnte erfolgreich mit EPA, DPA und DHA angereichert werden (Tabelle 2). Das Fettsäurenmuster von Mesenteriallymphknoten und Leber enthielten höhere Anteile an langkettigen n-3 Fettsäuren als Milz und Thymus. ARA war bei den Ferkel aus der VG zu jedem Zeitpunkt geringer als in der KG. Erst im letzten Drittel der Saugferkelphase war in der VG eine Erhöhung von EPA bei gleichzeitiger Reduktion von ARA festzustellen.

Die Zusammensetzung der Leukozytenpopulationen änderte sich zeitabhängig, aber nicht fütterungsbedingt. Der Anteil von CD21+ B-Zellen, CD8+ T-Zellen sowie CD4+CD8+ T-Zellen nahm im Laufe der Zeit geringgradig zu, wohingegen die CD4+CD8- T-Zellsubpopulation eine leichte Abnahme zeigte. Ein Einfluss der Fütterung auf die Oberflächenmoleküle konnte nicht beobachtet werden.

Tab. 2: Fettsäurenmuster (g/100g Gesamtfettsäuren, GFS) der Milz von Ferkeln geboren und gesäugt von Sauen, die Sonnenblumenöl(VG)- oder Robbenöl(KG) in der Ration enthielten

	Zeitpunkt									
Fettsäuren	24 h p.n.		10 d p.n.		19 d p.n.			Signifikanzniveau		
(g/100g GFS)	**KG**	**VG**	**KG**	**VG**	**KG**	**VG**	**SEM**[‡]	Gruppe	Zeit	Gruppe*Zeit
SAT	35,8	35,7	42,4	37,6	39,0	40,2	± 1,089	ns	*	ns
MUFA	27,7	28,0	23,1	31,3	24,1	27,4	± 1,000	ns	ns	ns
18 : 1n-9	20,3	13,3	17,0	20,3	16,3	14,9	± 1,063	ns	ns	ns
PUFA	35,6	26,8	33,2	31,9	35,6	31,4	± 1,058	*	ns	ns
n-6	14,3	6,8	15,9	9,7	21,5	9,3	± 0,972	***	***	**
18 : 2n-6	10,8	4,9	12,6	8,1	17,3	7,7	± 0,846	***	***	***
20 : 4n-6 ARA	15,8	7,2	12,7	6,8	11,0	5,2	± 1,081	***	**	ns
22 : 4n-6	2,2	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0	± 0,246	***	**	ns
n-3	5,9	13,5	4,8	15,5	4,0	17,0	± 1,031	***	ns	ns
18 : 3n-3	0,6	2,3	0,3	0,9	0,3	1,1	± 0,152	***	**	ns
20 : 5n-3 EPA	1,9	2,7	1,0	5,2	0,8	6,3	± 0,396	***	***	***
22 : 5n-3 DPA	1,0	2,4	1,5	4,1	1,3	4,5	± 0,311	***	**	ns
22 : 6n-3 DHA	1,2	3,3	1,2	4,3	0,9	4,4	± 0,326	***	ns	ns

[‡] gepoolter Standardfehler, * p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001

Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass der Fettsäurenstatus der Nachkommen durch die Sauendiät beeinflusst werden kann. In der vorliegenden Studie konnten die langkettigen n-3 PUFA EPA, DPA und DHA im neonatalen Ferkel und Saugferkel durch Supplementierung dieser in der maternalen Diät angereichert werden. Der ARA Anteil wurde reduziert, trotzdem war in den meisten Organen die Konzentration von ARA bis zum 10. Tag p.n. höher als die von EPA. Erst 19 Tage p.n. war mehr EPA als ARA in den Zellmembranen des lymphatischen Gewebes vorhanden. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Phospholipidfraktion ein ähnliches Fettsäurenmuster besaß. Aufgrund der Daten kann nun überlegt werden, ob die Resonanz von diätetischen Veränderungen im Bezug auf den Fettsäurenmetabolismus im neonatalen Organismus geringer ist als im adulten. Diese Beobachtung deckt sich mit REES et al. (2006), wo EPA in einer linear-dosisabhängigen Weise im Plasma und Zellmembranen von mononukleären Zellphospholipiden sich bei älteren Testpersonen zu höheren Anteilen integrierte als bei jungen Probanden.

Der geringe Effekt von n-3 PUFA auf die untersuchten Immunparameter könnte auf die Unreife des Immunsystems der Ferkel um den Geburtszeitpunkt zurückzuführen sein. Erst 2 bzw. 4-5 Wochen p.n. erreicht die Proliferationsaktvität von T- bzw. B-Lymphozyten annähernd die Werte von adulten Tieren (SCHWAGER u. SCHULZE, 1997). Auch könnte die n-3 PUFA Wirkung erst bei längerfristiger Applikation in der Ferkelaufzucht oder bei chronischen Aktivierungszuständen des Immunsystems

eintreten. Der Schweregrad an Lungenläsionen und peribronchialer Entzündung nach Infektion mit Mycoplasma hyopneumoniae war mit dem n-6/n-3 bzw. EPA/ARA Verhältnis in den Alveolarmakrophagen negativ korreliert (TUREK et al., 1996). Auch LIU et al. (2003), beobachteten nach Gabe von Fischöl an Ferkel eine höhere Lebendmassezunahme und höhere Futteraufnahme im Vergleich zur Kontrollgruppe nach Lipopolysaccharid Konfrontation.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass über die Sauenfütterung der Fettsäurenstatus von Saugferkel beeinflusst werden kann, aber das Immunsystem des Saugferkels refraktär auf diese Veränderung ist. Weiterführende Untersuchungen könnten vor allem Dosis-Wirkungsfragen klären und auch verschiedene n-3 Ölquellen mit unterschiedlichem Fettsäurenmuster evaluieren.

Literaturverzeichnis

CALDER, P. C. (2001): Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. Lipids 36, 1007-1024.

CALDER, P. C., YAQOOB, P., THIES, F., WALLACE, F.A., MILES, E. A. (2002): Fatty acids and lymphocyte function. Brit. J. Nutr. 87, Suppl.1, 31-48.

FRITSCHE, K. L., ALEXANDER, D. W., CASSITY, N. A., HUANG, S.-C. (1993): Maternally-Supplied Fish Oil Alters Piglet Immune Cell Fatty Acid Profile and Eicosanoid Production. Lipids 28, 677-682.

LAURIDSEN, C., DANIELSEN, V. (2004): Lactational dietary fat levels and sources influence milk composition and performance of sows and their progeny. Liv. Prod. Sci. 91, 95-105.

LESKANICH, C. O., NOBLE, R. C. (1999): The comparative roles of polyunsatturated fatty acids in pig neonatal development. Brit. J. Nutr. 81, 87-106.

LOPEZ-LOPEZ, A., CASTELLOTE-BARGALLO, A. I., LOPEZ-SABATER, M. C. (2001): Comparison of two Direct Methods for the Determination of Fatty Acids in Human Milk. Chromatograph. 54,743-47.

POMPÉJA, C., LOPES, L. R., MIYASAKA, C. K., PROCÒPIO, J., SANNOMIYA, P., CURI, R. (2000): Effect of fatty acids on leukocyte function. Braz. J. Med. Biol. Res. 33, 1255-1268.

REES, D., MILES, E. A., BANERJEE, T., WELLS, S. J., ROYNETTE, C. E., WHALE, K. W. J., CALDER, P. C. (2006): Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: comparison of young and older men. Am. J. Clin. Nutr. 83, 331-342.

ROOKE, J. A., SINCLAIR, A. G., EDWARDS, S. A. (2001a): Feeding tuna oil to the sow at different times during pregnancy has different effects on piglet long-chain polyunsaturated fatty acid composition at birth and subsequent growth. Br. J. Nutr. 86, 21-30.

ROOKE, J. A., SINCLAIR, A. G., EWEN, M. (2001b): Changes in piglet tissue composition at birth in response to increasing maternal intake of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids are non-linear. Br. J. Nutr. 86, 461-470.

SCHÄFER, K. (1998): Accelerated solvent extraction of lipids for determining the fatty acid composition of biological material. Anal. Chim. Acta. 358, 69-77.

SCHWAGER, J., SCHULZE, J. (1997): Maturation of the mitogen responsiveness, and IL2 and IL6 production by neonatal swine leukocytes. Vet. Immunol. Immunopathol. 57,105-119.

SWITZER, K. C., McMURRAY, D. N., CHAPKIN, R. S. (2004): Effects of Dietary n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on T-call Membrane Composition and Function. Lipids 39, 1163-1170.

TILTON, S. L., MILLER, P. S., LEWIS, A. J., REESE, D. E., ERMER, P. M. (1999): Addition of fat to the diets of lactating sows: I Effects on milk production and carcass composition of the litter at weaning. J. Anim. Sci. 77, 2491-2500.

TUREK, J. J., SCHOENLEIN, I.A., WATKINS, B.A., VANALSTINE, W. G., CLARK, L. K., KNOX, K. (1996): Dietary polyunsaturated fatty acids modulate responses of pigs to Mycoplasma hyopneumoniae infection. J. Nutr. 126, 1541-1548.

Autorenanschrift

Dr. Claudia Binter
Institut für Ernährung
Department für öffentliches Gesundheitswesen
Veterinärmedizinische Universität Wien
Claudia.Binter@vu-wien.ac.at

Laktulose: Effekt auf die Morphologie des Gastrointestinaltraktes und auf die Modulation der Immunfunktionen in probiotisch gefütterten Kälbern

S. Fleige[1], H. H. D. Meyer[1], W. Preißinger[2], M. W. Pfaffl[1]

[1] Technische Universität München, Zentralinstitut für Ernährung und Lebensmittelforschung, Abteilung Physiologie, Weihenstephan, Germany
[2] Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft, Poing-Grub, Germany

Einleitung

Ein Hauptproblem der auf Zukauf von Kälbern aus verschiedenen Herkunftsbeständen angewiesenen Aufzucht- und Mastbetriebe besteht darin, Tiere mit vollkommen unterschiedlichem Immunstatus gesund und leistungsfähig zu erhalten. Eine in der Praxis vielfach geübte Maßnahme besteht in der vorbeugenden Verabreichung von Antibiotika an die neu aufgestallten Kälber. Vor dem Hintergrund des EU-weiten Verbots antibiotischer Leistungsförderer seit dem 01.01.2006 in der Tierernährung, werden vielfältige alternative Leistungsförderer (Pro- und Präbiotika, organische Säuren, Enzyme und Pflanzeninhaltsstoffe) zunehmend in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. So werden diese alternativen Futterzusätze vielfach mit der Erwartung eingesetzt, dass sie ähnliche wachstums- und gesundheitsfördernde Effekte wie die Fütterungsantibiotika erzielen, ohne dabei negativ auf die Rückstandsproblematik und die Resistenzentwicklung zu wirken.

Das halbsynthetisches Dissacharid Laktulose ist ein Isomerisierungsprodukt der Laktose (Schumann, 2002) und kommt natürlicherweise nur in begrenzten Mengen vor. Nach oraler Applikation gelangt Laktulose unverändert in das Colon, wo sie durch die saccharolytische Mikroflora metabolisiert wird. Seit Jahrzehnten wird Laktulose erfolgreich in der Humanernährung eingesetzt und gilt als Präbiotikum, von dem man sich verdauungsfördernde Effekte verspricht. Die Laktulosewirkung entfaltet sich im Dickdarmbereich, indem gewünschte Keime gefördert und Pathogene in ihrem Wachstum gehemmt werden, was die Herstellung einer Eubiose im Darm fördert. Auch lassen zahlreiche Befunde die Vermutung entstehen, dass Probiotika die Bildung von spezifischen und unspezifischen Zytokinen, zellulär vermittelten Immunitätsexpressionen und die Erhöhung der unspezifischen Abwehr massiv fördern. Seit geraumer Zeit wird der Laktuloseeinsatz bei Magen-Darm-Problemen verschiedener Nutztiere diskutiert (Hagemann, 2003; Westphal, 2003; Zeyner, 2003a,b). Experimentelle Arbeiten zum Laktuloseeinsatz beim Kalb fehlen weitgehend. In diesem Zusammenhang sollte die immunmodulatorische Wirkung, sowie die morphologische Änderung im Gastrointestinaltrakt durch Laktulose in der kombinierten Anwendung mit dem Probiotikum *E.faecium* auf die Physiologie von pre-ruminanten Kälbern untersucht werden. Da luminale Nahrungsbestandteile des Verdauungsbreies das Muster der Genexpression verändern können und somit das Ausmaß der Apoptose beeinflussen können, wurden zur Klärung der Apoptoseregulation Vertreter der Bcl-2 Familie und weitere Apoptose- und Proliferationsfaktoren erforscht.

Material und Methoden

Versuchstiere

Der Versuch wurde mit 42 Kälbern der Rasse Simmental-Fleckvieh im Fresseraufzuchtstall der Versuchstation Karolinenfeld durchgeführt. Die Tiere wurden in drei homogene Gruppen mit je 7 männlichen und 7 weiblichen Fleckviehkälbern eingeteilt. Die Zuteilung der Tiere auf die Gruppen erfolgte nach Lebendmasse (74±2,1), Alter (39±2,5) und Abstammung. Es wurde ein Mastendgewicht von ca. 240 kg angestrebt.

Fütterung

Im Fütterungsversuch wurden drei Milchaustauschfutter (MAT) für Mastkälber mit unterschiedlichen Laktulosegehalten geprüft. In der Kontrollgruppe (L0) kam ein handelsüblicher MAT (Milkibeef® Top, Trouw Nutrition, Burgheim) zum Einsatz. Laut Hersteller enthielt dieser 50,2% Magermilchpulver sowie Molkenpulver, Pflanzenfett (raffiniert), Molkenpulver (teilentzuckert) und Weizenquellstärke. Der MAT war für alle Fütterungsgruppen mit 10^9 KBE *Enterococcus faecium* versetzt. Für die Fütterungsgruppen wurden dem MAT 2,5% Lactusat (Milei GmbH, Leutkirch) für die Fütterungsgruppe L1 bzw. 7,5% Lactulsat für die Fütterungsgruppe L3 - im Austausch gegen Molkenpulver - teilentzuckert eingemischt. Lactusat enthält 42% Laktulose wodurch Laktulosegehalte von 1% (Gruppe L1) bzw. 3% (Gruppe L3) im MAT realisiert wurden (Fleige et al. 2007a). Der Tränkeplan begann bei einer Konzentration von 125 g/l MAT, welche auf 250 g/l bis zum Versuchende gesteigert wurde. Die Tränkemenge je Tier belief sich auf bis zu 17,5 l/Tag. Die abgerufene Menge an MAT wurde tierindividuell über Tränkeautomaten (Fa. Förster, Engen) zugeteilt und aufgezeichnet. Zusätzlich wurde pro Tier und Tag bis zu 0,5 kg Heu angeboten. Die Schlachtung der Versuchstiere fand nach 19 Wochen im Schlachthof der LfL in Grub statt.

Histomorphometrische Untersuchungen

Die Gewebe (Jejunum, Ileum, Caecum und Colon) wurden mit histotechnischen Methoden für die Analyse vorbereitet. Aussagekräftige Gewebebezirke wurden zugeschnitten und nach zweimaligem Waschen in physiologischer Kochsalzlösung in 3,5% Formaldehydlösung fixiert. Die Entwässerung, Imprägnierung und das Einblocken des Gewebes in Paraffin wurde am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern in Oberschleißheim durchgeführt. Es wurden am Microtom 7-8 µm dicke Schnitte hergestellt und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Die Schnitte wurden mit dem Lichtmikroskop Acioskop 2 plus (Zeiss, Oberkochen) mit einem 10x/0.30 Plan-Neofluar Objektiv analysiert und mit dem System AxioVision 3.1 vermessen (Fleige et al. 2007a).

Genexpressionsanalyse

Zur Analyse der Genexpression wurden Gewebeproben vom Jejunum, Ileum, Caecum und Colon bei der Schlachtung entnommen, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C gelagert. Die total RNA wurde mit TriFast (Peqlab, Erlangen) extrahiert. Die Qualität und Quantität der Probe wurde anschließend mittels Biophotometer (Eppendorf, Hamburg) bestimmt. Um Fehlinterpretationen der Genexpressionsdaten durch das Verwenden degradierter RNA zu vermeiden wurden weitere Qualitätsbestimmungen mit dem Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) durchgeführt. Die quantitative RT-PCR wurde mit dem SuperScript III Platinum SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) am Rotor-Gene 3000 durchgeführt (Fleige et al. 2007b). Sequenzspezifische Primer wurden von der GenBank (National Center for Biotechnology Information) ermittelt und mit dem Programm HUSAR des Deutschen

Krebsforschungszentrums designt. Für die relative Quantifizierung wurden die einzelnen Crossing Points (CT) der Targetgene mit den gemittelten Wert der CT´s der Referenzgene (Ubiquitin, GAPDH, ß-Actin) normalisiert (=ΔCP). Die Änderung der Genexpression durch die Fütterung der Gruppen L1 und L3 in Bezug auf die Kontrollgruppe wurde mittels des ΔΔCP berechnet. Bei der Berechnung wurde die Effizienz (E) der qRT-PCR mit einbezogen, indem das „single-run-specific efficiency corrected relative expression model" angewendet wurde. Die Daten wurden als relative Expression ($E^{\Delta\Delta CP}$) dargestellt, wobei die Kontrollgruppe immer eine relative Expression von 1 aufweist. Eine Abregulation stellt sich mit einer relativen Expression <1 dar und eine Aufregulationen mit einer relativen Expression >1 dar.

Gruppenunterschiede wurde durch eine two-way ANOVA ermittelt (SIGMA STAT ???). Signifikante Unterschiede wurden wie folgt gekennzeichnet (*** $P < 0{,}001$; ** $P < 0{,}01$; * $P < 0{,}05$) sowie ein Trend in den Ergebnissen (+ $0{,}05 < P < 0{,}1$).

Ergebnisse & Diskussion

Wirkung der Laktulose auf die Darmmorphologie

Fütterungsbedingte morphologische Änderungen durch Laktulose sind im Ileum als auch im Caecum nachzuweisen (Abbildung 1). Im Ileum führte der Zusatz von 1% und 3% Laktulose gegenüber der Kontrollgruppe zu einer signifikanten Reduzierung der Darmzotten. Im Jejunum konnten keine morphologischen Änderungen festgestellt werden. Kamphues et al. 2003 und Branner et al. 2004 untersuchten die Konzentration von Laktulose bei oraler Verabreichung in verschiedenen Darmabschnitten, wobei eine erhöhte Laktulosekonzentration im Ileum gegenüber dem Jejunum festgestellt wurde. Dieses Beobachtung könnte den Effekt von Laktulose auf die Darmmorphologie im Ileum und die Wirkungslosigkeit im Jejunum erklären. Die reduzierte Zottenlänge führt zu einer geringeren Darmschleimhautoberfläche im Ileum, was sowohl positiv als auch negativ bewertet werden kann. Zum einen kommt es zu einer geringern Resorptionsfläche, was zu einer verminderten Absorption von Nährstoffen führen kann. Auf der anderen Seite stehen durch die verminderte Zottenoberfläche geringere Andockstellen für Pathogene zur Verfügung. Weiterhin konnten im Caecum verminderte Kryptentiefen bei beiden Fütterungsgruppen festgestellt werden.

Ursache dieser morphologischen Änderungen könnte eine erhöhte Apoptose- oder eine verminderte Proliferationsrate der Enterozyten durch die Verabreichung von Laktulose sein. Durch die Fermentation von Laktulose entstehen kurzkettige Fettsäuren (SCFA) wie Butyrat, Propionat und Acetat. Die Produktion von SCFA wird als Grund für den morphologischen Effekt angenommen (Mandal et al. 2001). Diverse Studien berichten über einer verminderte Zellproliferation bei ansteigender Synthese von Butyrat (Kien et al., 1999; Klien et al., 2006). Präbiotika im Allgemeinen können die Apoptoserate im Intestinum senken (Hughes and Rowland, 2001) und Laktulose im Speziellem zeigt eine reduzierende Wirkung auf die Zellproliferation (Kien et al., 1999).

Um die histomorphometrischen Untersuchungen zu bestätigen wurde die Genexpression diverser Apoptose- und Proliferationsmarker untersucht. Abbildung 2 zeigt die Veränderung der Genexpression des anti-apoptotischen Faktors Bcl-xl und des Apoptosefaktors Caspase3 durch die Zulage von Laktulose. In den untersuchten Darmsegmenten zeigt sich eine verminderte Expression von Bcl-xl ($P<0.05$) im Jejunum. Diese Daten lassen eine Verlängerung der Zotten im Jejunum der Fütterungsgruppe L3 vermuten, jedoch konnten keine morphologischen Änderungen im Jejunum festgestellt werden.

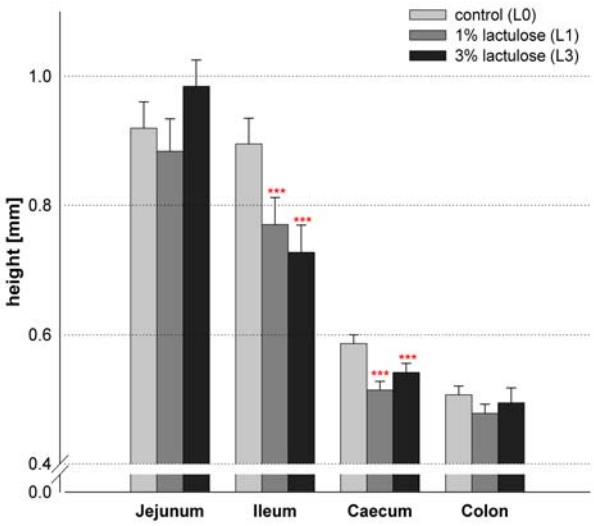


Abbildung 1: Auswirkung der Fütterung verschiedener Konzentrationen an Laktulose auf die Zottenlänge (Jejunum und Ileum) und Kryptentiefe (Caecum und Colon).

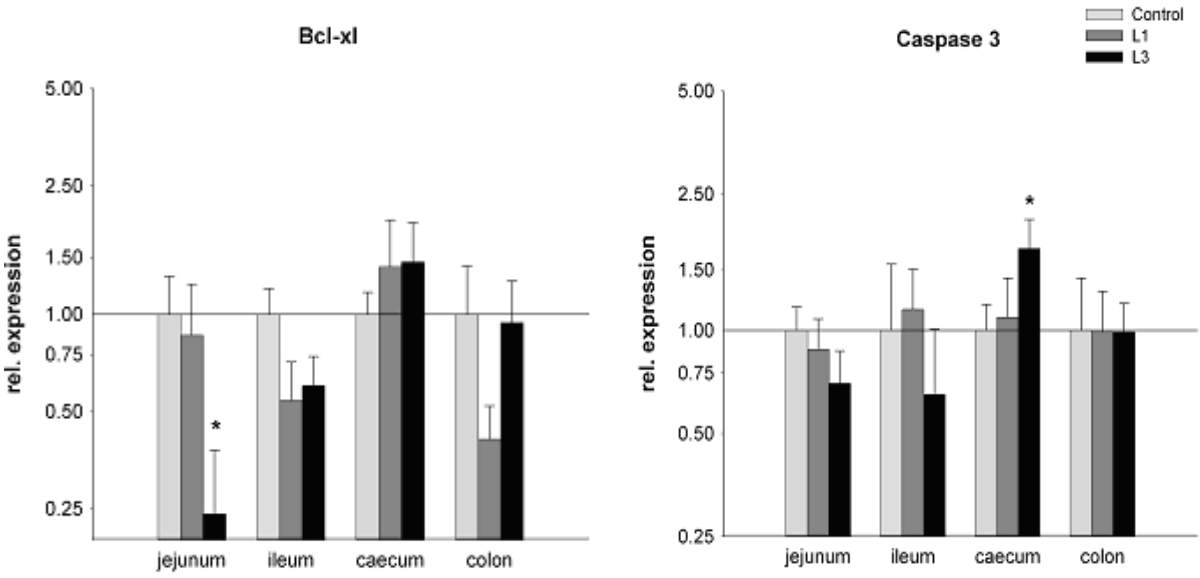


Abbildung 2: Relative Expression des anti-apototischen Faktors Bcl-xl und des Apoptosefaktors Caspase 3 in unterschiedlichen Darmsegmenten in Bezug auf die Kontrollgruppe L0.

Im Caecum konnten die morphologischen Veränderungen (geringere Kryptentiefe) durch die erhöhte Genexpression von Caspase 3 ($P<0.05$) in der Fütterungsgruppe L3 bestätigt werden. Caspasen sind die Hauptakteure bei der Apoptose, die in fast allen Zelltypen während der Signalkaskade der Apoptose aktiviert werden (Kidd, 1998). SCFA, insbesondere Butyrat, haben trophische Wirkung auf

Darmepithelzellen und beeinflussen deren Proliferation und Differenzierung als auch die Apoptose. Durch die Fütterung von Laktulose kann die erhöhte Konzentration von SCFA zu der erhöhten Caspase 3 Expression geführt haben.

Wirkung der Laktulose auf das Immunsystem

Die Regulation der Expression inflammatorischer sowie anti-inflammatorischer Markergene stellt eine Möglichkeit dar potentielle Effekte von Laktulose auf das Immunsystem zu beobachten. Bei der Analyse diverser inflammatorischer Markergene wie IL-1ß, TNF-α, IL-8 konnten keine Änderungen im Genexpressionsmuster festgestellt werden. Jedoch zeigten sich signifikante Unterschiede in der Expression von TGF-ß1 und IL-10 (Abbildung 3). Fast alle Körperzellen können TGF-ß freisetzen und besitzen TGF-ß Rezeptoren, um auf diesen Wachstumsfaktor zu reagieren. Im Darm wird TGF-ß vor allem von den ausdifferenzierten Epithelzellen in den Darmzotten synthetisiert, was auch die verminderte Krytentiefe im Caecum erklärt. TGF-ß1 ist innerhalb des Immunsystems die vorherrschende Isoform. TGF-ß1 besitzt immunmodulatorische Fähigkeiten, kann die Differenzierung von Immunzellen beeinflussen und wirkt überwiegend immunsuppressiv. Die Funktionen von IL-10 sind ebenfalls als überwiegend immunsuppressiv einzustufen und dienen dazu eine Entzündungsreaktion zu beenden. IL-10 hemmt die Produktion zahlreicher Zytokine (IL-1, IL-8, IL-12, TNF-α) und reduziert somit proinflammatorische Mediatoren und vermindert die Antigenpräsentation der Monozyten/Makrophagen.

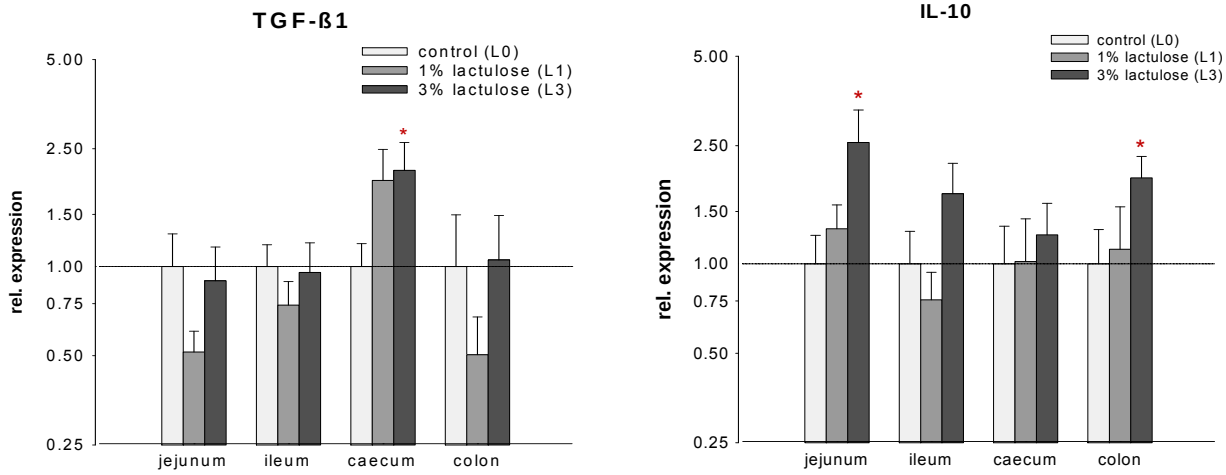


Abbildung 3: Relative Expression von IL-10 (A) and TGF-$ß_1$ (B) in unterschiedlichen Darmsegmenten in Bezug auf die Kontrolle.

Wie die Abbildung 3 zeigt, erhöht Laktulose in der Fütterungsgruppe L3 die Expression von TGF-ß1 im Caecum und die IL-10 Expression im Jejunum und Colon. Diese Resultate können auf eine erhöhte orale Toleranz der Versuchskälber hinweisen. IL-10 hemmt die Makrophagenfunktion und verhindert somit eine überschießende Entzündungsreaktionen. Gebildet wird es vor allem von TH2-Zellen und ist für die Sezernierung von sekretorischem IgA (sIgA) von zentraler Bedeutung. IgA wird von Plasmazellen als Dimer in der Lamina propria sezerniert und über die Epithelzellen als lösliches IgA (sIgA) in das Lumen ausgeschleust, was wiederum zu einer erhöhten oralen Toleranz führt. Der im Dünndarm beginnende Abbau von Laktulose hat vermutlich eine Veränderung der dortigen Darmflora

zur Folge. Es ist denkbar das die Differenzierung von CD4-T-Zellen angeregt wurde. Diese Differenzierung ist für die Ausbildung der oralen Toleranz von zentraler Bedeutung, da die differenzierten CD4-T-Zellen vor allem IL-10 sezernieren. Eine erhöhte IL-10 Expression konnte durch die Laktulosefütterung bewirkt werden. Laktulose selbst oder das durch die Fermentation entstandene Butyrat können direkt oder indirekt zu einer Beeinflussung des darmassoziierten Immunsystems und zu einer Beeinflussung der Funktion von Immunzellen beigetragen haben.

Um die Wirkung von Laktulose auf das Immunsystem genauer beschreiben zu können, wurden zwei weitere Faktoren mit zentraler Rolle in der Immunregulation untersucht. Wie die Abbildung 4 zeigt, wird IFN-γ bei männlichen Kälbern der Fütterungsgruppe L3 signifikant abreguliert. TH1-Zellen (Teil der adaptiven Immunabwehr) bilden IFN-γ nach Kontakt mit einem Makrophagen, welcher Bakterien phagozytiert hat. Weiterhin induziert IFN-γ in B Zellen einen Ig-Klassenwechsel (Le Page et al., 2000) und ist somit wichtig für die Regulation der humoralen Immunantwort. Die reduzierte Expression von IFN-γ kann somit als Hinweis auf eine gesteigerte humorale Immunantwort gedeutet werden.

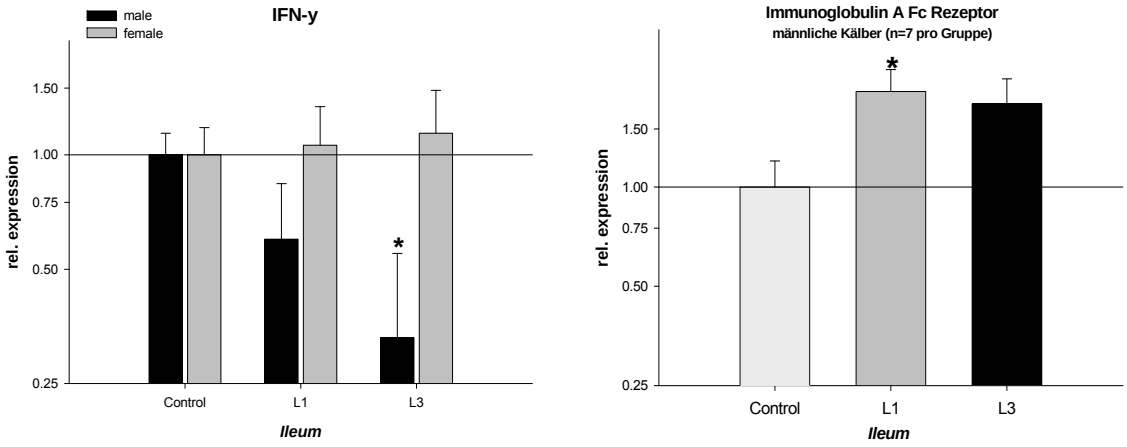


Abbildung 4: Auswirkung der Laktulosefütterung auf die relative Expression von INF-γ (A) bei männlichen und weiblichen Kälbern und dem IgA Fc Rezeptor (B) im Ileum männlicher Kälber.

Auch eine erhöhte Expression des IgA Fc Rezeptor konnte nur in männlichen Tieren festgestellt werden, während innerhalb der einzelnen Fütterungsgruppen (männlich und weiblich) keine Änderung der Genexpression beobachtet wurde. Andere Studien über die Wirkung von Laktulose berichten über erhöhte IgA Sekretion oder IgA Zellen im darmassozierten lymphatischen Gewebe (Kudoh et al., 1999). Auch Probiotika zeigten eine deutliche Erhöhung der IgA Konzentration (Roller et al., 2004). Laktulose kann durch die gleichzeitige Verabreichung mit dem Probiotikum *E.faecium* zu einer erhöhten Wachstumsrate der probioitschen Bakterien geführt haben und somit indirekt eine Wirkung auf die IgA Fc Rezeptor Konzentration ausgeübt haben. Warum diese Wirkung nur bei männlichen Tieren zu beobachten ist, muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Es ist jedoch allgemein bekannt, das männliche Tiere durch erhöhte Hormonspiegel eine erhöhte humorale und zelluläre Immunität aufweisen (Butterworth et al. 1967; Posma et al. 2004).

Insgesamt kann eine Immunmodulation nur in der Fütterungsgruppe L3 vermutet werden, wobei sich bei den männlichen Tieren offensichtlichere Veränderungen zeigen. Die morphologischen Veränderungen sind durch die Fermentationsprodukte Butyrat, Acetat und Propionat zu begründen. Weitere Arbeiten mit differenzierten Versuchsanstellung sind notwendig um eine eindeutige Aussage über die Auswirkung von Laktulose auf die Darmgesundheit zu machen.

Literatur

Branner GR, Böhmer BM, Erhardt W, Henke J, Roth-Maier DA (2004): Investigation on the precaecal and faecal digestibility of lactulose and inulin and their influence on nutrient digestibility and microbial characteristics. Archives of Animal Nutrition 58(5): 353-66.

Butterworth M, McClellan B, Allansmith M (1967): Influence of sex in immunoglobulin levels, Nature 214(5094): 1224-1225.

Fleige S, Preißinger W, Meyer HHD, Pfaffl MW (2007a): Effect of lactulose on growth performance and intestinal morphology of pre-ruminant calves using a milk replacer containing Enterococcus faecium. Animals 1: 367-373.

Fleige S, Preißinger W, Meyer HHD, Pfaffl MW (2007b): Lactulose: Health benefits in the gastrointestinal tract of pre-ruminant calves. Veterinary Medicine – Czech (angenommen).

Hagemann L (2003): Laktuloseeinsatz im perinatalen Zeitraum bei Sauen. Symposium der LWK Westfalen-Lippe und der Universität Leipzig: Laktulose – ein Lösungsansatz bei Magen-Darm-Problemen im Nutztierbereich, 29.01.2003 Münster.

Kamphues J, Tabeling R, Stuke O (2003): [Possible interesting dietetic effects of lactulose as a feed additive in pig feed]. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 110(9): 365-8.

Kidd VJ (1998): Proteolytic activities that mediate apoptosis. Annual Review of Physiology 60: 533-573.

Kien CL, Murray RD, Qualman SJ, Marcon M (1999): Laktulose feeding in piglets: a model for persistent diarrhea and colitis induced by severe sugar malabsorption. Digestive Disease and Science 44(7): 1476-1484.

Klien CL, Schmitz-Brown M, Solley T, Sun D, Frankel WL (2006): Increased colonic luminal synthesis of butyric acid is associated with lowered colonic cell proliferation in piglets. American Society for Nutrition. The Journal of Nutrition 136: 64-69.

Le Page C, Genin P, Baines MG, Hiscott J (2000): Interferon activation and innate immunity. Review in Immunogenetic 2,374-386.

Mandal M, Olson DJ, Sharma T Vadlamudi RK, Kumar R (2001): Butyric acid induces apoptosis by up-regulationg Bax expression via stimulation of the c-Jun N-terminal kinase/activation protien-1 pathway in human colon cancer cells. Gastroenterology 120: 71-78.

Mowat AM (2003): Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. Nature Rev Immunol 3:331-341.

Posma E, Moes H, Heineman MJ, Faas MM (2004): The effect of testosterone on cytokine production in the specific and non specific immune response. Am. J. Reprod. Immunol. 52 (4): 237-243.

Roller M, Rechkemmer G, Watzl B (2004): Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis modulates intestinal immune functions in rats. The journal of Nutrition 134: 153-156.

Schumann C (2002): Medical, nutritional and technological properties of lactulose. An update. Review. Eur J Nutr. 41, 1:17-25.

Westphal O (2003): Praxiserfahrungen beim Laktuloseeinsatz im perinatalen Zeitraum bei Mutterkühen. Symposium der LWK Westfalen-Lippe und der Universität Leipzig: Laktulose – ein Lösungsansatz bei Magen-Darm-Problemen im Nutztierbereich, 29.01.2003 Münster.

Zeyner A (2003a): Wirkung von Laktulose als Siliermittel auf Gärqualität und die aerobe Stabilität. Symposium der LWK Westfalen-Lippe und der Universität Leipzig: Laktulose – ein Lösungsansatz bei Magen-Darm-Problemen im Nutztierbereich, 29.01.2003 Münster.

Zeyner A (2003b): Untersuchungen zur Verträglichkeit von Laktulose bei Pferden. Symposium der LWK Westfalen-Lippe und der Universität Leipzig: Laktulose – ein Lösungsansatz bei Magen-Darm-Problemen im Nutztierbereich, 29.01.2003 Münster.

Autorenanschrift

Simone Fleige und Michael Pfaffl
Lehrstuhl für Physiologie
Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährung und Landwirtschaft
Weihenstephaner Berg 3, D-84355 Freising
Email: fleige@wzw.tum.de; michael.pfaffl@wzw.tum.de

Effekte von Pinienpollenextrakten auf das Wachstum von ilealen Schweinezellkulturen

S. Masanetz[1], K. Schedle[2], W. Windisch[2] und M. W. Pfaffl[1]

[1] Technische Universität München

[2] Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Pollen der chinesischen Gelbkiefer (*Pinus massoniana*) werden in der traditionellen chinesischen Medizin bereits seit mehreren hundert Jahren verwendet. Die Haupteinsatzgebiete sind dabei Störungen des Verdauungssystems, wie z.B. chronische Verstopfung. Mittlerweile werden Pollen allerdings auch als Nahrungsergänzungsmittel oder in der kosmetischen Industrie eingesetzt (Zhao et al., 1996) und Verbraucher werden mit den gesundheitsfördernden Effekten dieser Naturprodukte geworben. Um diese propagierten Effekte zu bestätigen, wurden bisher einige Studien durchgeführt, in denen u.a. festgestellt wurde, dass die Gelbkieferpollen hauptsächlich Zellwandbestandteile und nur wenig metabolisierbare Energie enthalten (Zhao et al., 1996). Allerdings wurde auch berichtet, dass Pinienpollen verschiedene Kohlenhydrate (Bouveng, 1963), Fette (Scott und Strohl, 1962) und Polyphenole (Strohl und Seikel, 1964) enthalten, wobei vor allem letztere für ihre anti-oxidativen, anti-karzinogenen und immunstimulierenden Effekte bekannt sind (Lambert et al., 2005; Sehm et al., 2006). Kürzlich wurde festgestellt, dass Absatzferkeln, deren Futter Pinienpollen zugesetzt wurden höhere tägliche Gewichtszunahmen aufwiesen, was auf prebiotische Wirkungen der Pollen zurückgeführt wurde. Zusätzlich fanden die Autoren dieser Studie eine Änderung des Genexpressionsmusters von TNFα in verschiedenen Organen des Magen-Darm-Trakts und in den mesenterialen Lymphknoten, die auf eine gesteigerte Alarmbereitschaft des Immunsystems hinwies (Schedle et al., 2006). Pollenextrakte einer anderen Pinie, *Pinus densiflora*, zeigten in einer anderen Studie sowohl anti-nozizeptive als auch anti-inflammatorische Wirkungen bei Versuchen mit Mäusen (Choi, 2007).

Die vorliegende Studie soll die Effekte verschiedener Extrakte von *Pinus massoniana*-Pollen auf die Proliferation und die Genexpression der ilealen Schweinezelllinie IPI-21 klären, um mögliche Wirkungen im Gastrointestinaltrakt zu simulieren.

Material und Methoden

Die Gelbkieferpollen wurden zunächst mit einer Kugelmühle (Retsch GmbH & Co. KG, Haan, Deutschland) gebrochen, um die Extraktionsausbeuten zu steigern. Vor Beginn wurden die Pollen in flüssigem Stickstoff schockgefroren, um eine thermische Schädigung der Inhaltsstoffe zu vermeiden. 5 g der gebrochenen Pollen wurden dann über 24 h bei Raumtemperatur mit je 60 ml Wasser, 50% Ethanol, 100% Ethanol oder Hexan/80% Methanol (v/v = 1/1) behandelt. Mit denselben Lösungsmitteln aber ohne Zusatz von Pollen wurden Kontrollextrakte angefertigt. Hexan und 80% Methanol bildeten zwei Phasen und wurden getrennt voneinander weiter bearbeitet. Nach der

Extraktion wurden die Lösungsmittel durch Gefriertrocknung (Christ Alpha 1-4, Martin Christ GmbH, Osterode, Deutschland) oder Vakuumzentrifugation (RC 10.22, Jouan, Tring, Großbritannien) entfernt und die Ausbeuten wurden bestimmt. Anschließend wurden die Extrakte in PBS mit 20% (2-Hydroxypropyl)-β-Cyclodextrin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) rückgelöst. Das Cyclodextrin diente dabei zur Verbesserung der Löslichkeit der Polleninhaltsstoffe. Um mikrobielle Kontaminationen zu entfernen, wurden die Extrakte über 0.2 µm-Filter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) sterilfiltriert.

Die ileale Schweinezelllinie IPI-21 (Kaeffer et al., 1993) stammte von der European Collection of Cell Cultures (ECACC, Sailsbury, Großbritannien). Die Zellen wuchsen in DMEM (Sigma-Aldrich) mit 10% fetalem Kälberserum (Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland), 1% Penicillin und Streptomycin (PAA Laboratories GmbH, Pasching, Österreich) und 4,5 µg/ml bovinem Insulin (Sigma-Aldrich).

Um die Proliferationsfähigkeit der Zellen zu messen, wurden diese mit einer Dichte von $3.0x10^4$ Zellen pro Well in 12-Well-Platten ausgesät. Nach einer Nacht Erholungszeit wurden die Zellen mit 0,5% Pollen- bzw. Kontrollextrakt in Zellkulturmedium behandelt. Die Zelldichte wurde 0h, 4h, 8h, 24h und 48h nach der Behandlung bestimmt. Dazu wurden die Zellen zuerst mit PBS gewaschen, mit 0,25% Trypsin/EDTA (Sigma-Aldrich) abgelöst und anschließend in 1 ml PBS aufgenommen. Die Zelldichte wurde dann mit einer Neubauer-Zählkammer bestimmt.

Für die RNA-Extraktion wurden die Zellen mit einer Dichte von $6.0x10^4$ pro Well in 12-Well-Platten ausgesät. Am nächsten Tag wurden die Zellen mit 0,5% Pollen- oder Kontrollextrakt behandelt. 24 h nach der Behandlung erfolgte die RNA-Extraktion mit TriFast (PeqLab, Erlangen, Deutschland). Die RNA-Konzentrationen wurden mittels eines Biophotometers (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) bestimmt und die Proben dann auf 10 ng/µl verdünnt.

Die relative Quantifizierung der Genexpression verschiedener Gene erfolgte mit einem Rotor-Gene 6000 (Corbett Live Science, Sydney, Australien) und einem SuperScript III Platinum SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (Invitrogen). Je Probe (3,8 µl) wurden 5 µl 2x SYBR Reaction Mix, 0,5 µl je forward und reverse Primer und 0,2 µl One-Step Enzyme Mix eingesetzt. Die verwendeten Primerpaare werden in Tabelle 1 gezeigt. Das PCR-Programm bestand aus reverser Transkription (10 min bei 50°C), Denaturierung (5 min bei 95°C) und 45 Zyklen mit variierenden Temperaturen je nach untersuchtem Gen (Tabelle 1). Eine nachfolgende Schmelzkurvenanalyse diente als Qualitätskontrolle. Die relative Quantifizierung wurde mit Effizienzkorrektur durchgeführt (Pfaffl, 2001). Die Zielgene wurden dabei mit Hilfe der Kontrollgene Histon H3 und Ubiquitin normalisiert.

Tabelle 1: Primerpaare und Temperaturprofile für die quantitative RT-PCR

Gen	**Primer**	**Temperaturprofil**
Histon H3 (Kontrollgen)	For.: ACT GGC TAC AAA AGC CGC TC	30 s bei 60°C
	Rev.: ACT TGC CTC CTG CAA AGC AC	
Ubiquitin (Kontrollgen)	For.: AGA TCC AGG ATA AGG AAG GCA T	30 s bei 60°C
	Rev.: GCT CCA CCT CCA GGG TGA T	
Caspase 3 (pro-apoptotisch)	For.: TGT GTG CTT CTA AGC CAT GG	30 s bei 61°C
	Rev.: AGT TCT GTG CCT CGG CAG	
CDK 4 (pro-proliferatorisch)	For.: AGA CCT GAA GCC AGA GAA CAT TC	30 s bei 61°C, 20 s bei 68°C
	Rev.: AAG ATA CAG CCA ACG CTC CAC	
TGFβ (anti-inflammatorisch)	For.: TAC TAC GCC AAG GAG GTC AC	30 s bei 60°C
	Rev.: TCT GCC CGA GAG AGC AAT ACA	
IL-6 (pro-inflammatorisch)	For.: AAG GTG ATG CCA CCT CAG AC	30 s bei 60°C
	Rev.: TCT GCC AGT ACC TCC TTG CT	
IL-8 (pro-inflammatorisch)	For.: GGC AGT TTT CCT GCT TTC TGC	30 s bei 60°C
	Rev.: CAG TGG GGT CCA CTC TCA AT	

Alle Ergebnisse wurden als Durchschnittswerte ± SEM dargestellt. Statistische Signifikanz ($p < 0,05$) oder abgesicherte Tendenzen ($p < 0,10$) wurden über einen zweiseitigen Student's t-Test ermittelt.

Ergebnisse

Eine mikroskopische Analyse zeigte, dass die nativen Pollenkörner weitgehend intakt waren, während sie nach dem Brechen praktisch komplett zerstört waren (Abbildung 1)

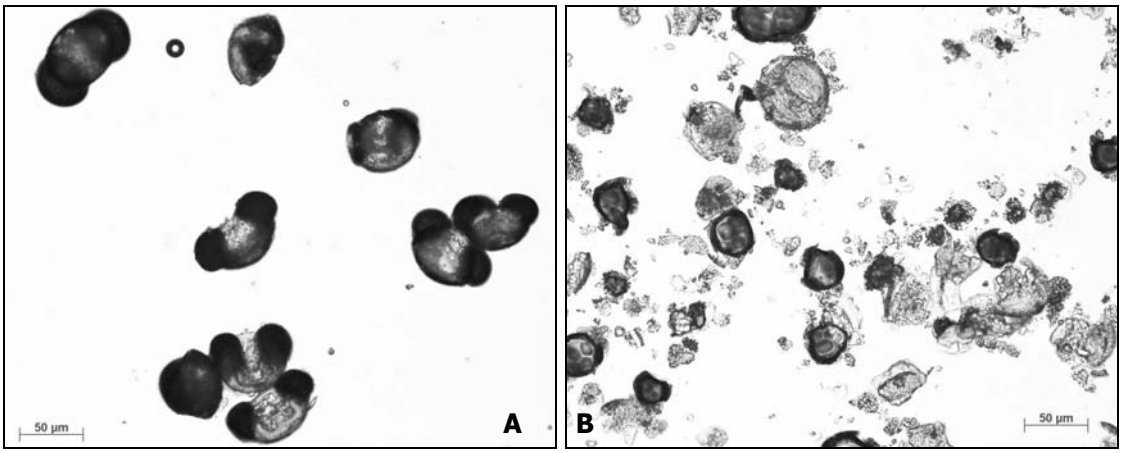


Abbildung 1: Pollen von *Pinus massoniana* vor (A) und nach (B) dem Brechen mit einer Kugelmühle.

Alle Pollenextrakte hatten eine gelbliche bis braune Farbe. Die Ausbeuten lagen zwischen 0,39 g beim Hexanextrakt und 1,33 g beim 50% Ethanol-Extrakt (Tabelle 2). Die Ausbeuten bei den Kontrollextrakten waren nicht messbar (< 0,01 g).

Tabelle 2: Ausbeute der Pollenextrakte

Extrakt	**Ausbeute [g]**	**Ausbeute [%]**
Wasser	1.15	23.0
50% Ethanol	1.33	26.6
100% Ethanol	0.45	9.0
Hexan	0.39	7.8
80% Methanol	0.49	9.8

Alle Pinienpollenextrakte mit Ausnahme des Wasserextrakts (Abbildung 2) bewirkten im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollextrakten eine signifikante ($p < 0,05$) Senkung der Zellproliferation der IPI-21-Zellen. Die stärkste Verringerung um mehr als 50% nach 48h zeigte der 50% Ethanol-Extrakt (Abbildung 3). Abbildung 4 gibt einen Überblick über die Veränderungen der Zelldichten nach 48h Behandlung mit den einzelnen Pollenextrakten. Alle Ergebnisse stellen Durchschnittswerte von vier gleich behandelten Wells dar. Da die Einflüsse der 50% und 100% Ethanol-Extrakte am stärksten waren, während der Wasserextrakt keinen signifikanten Einfluss zeigte, ist anzunehmen, dass sich die verursachenden Polleninhaltsstoffe in einem eher lipophilen Lösungsmittel besser lösen, als in Wasser. Bei jeder Behandlung zeigte sich innerhalb der ersten 8h eine leichte Abnahme der Zelldichte, die

möglicherweise auf die Handhabung der Zellen bei Raumtemperatur während des Pipettierens zurückzuführen sein könnte.

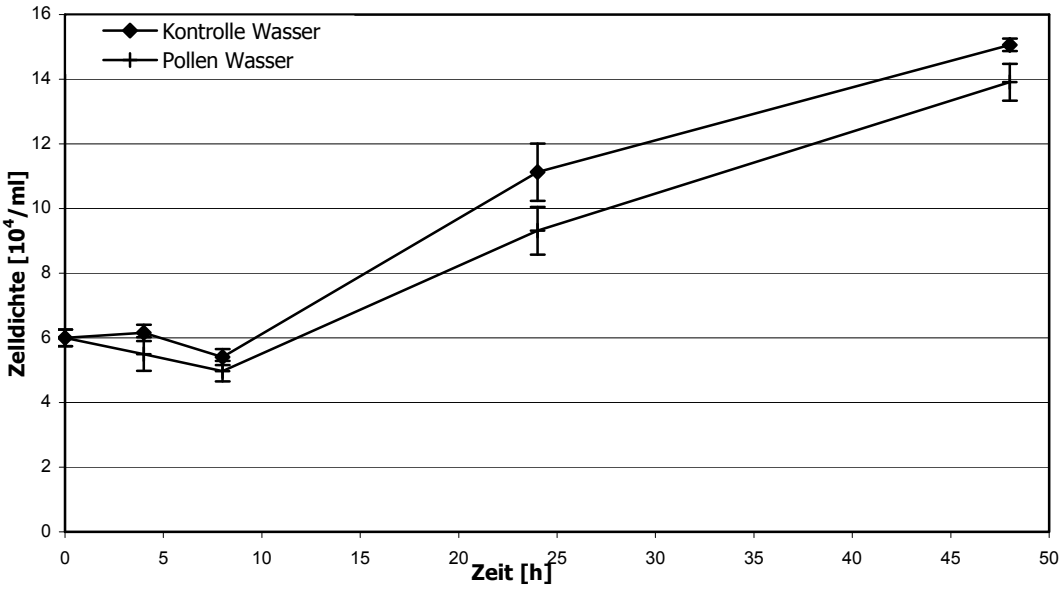


Abbildung 2: Der Wasserextrakt aus *Pinus massoniana*-Pollen hat im Vergleich zum Kontroll-Wasserextrakt keine signifikanten Effekte auf die Proliferation von IPI-21-Zellen.

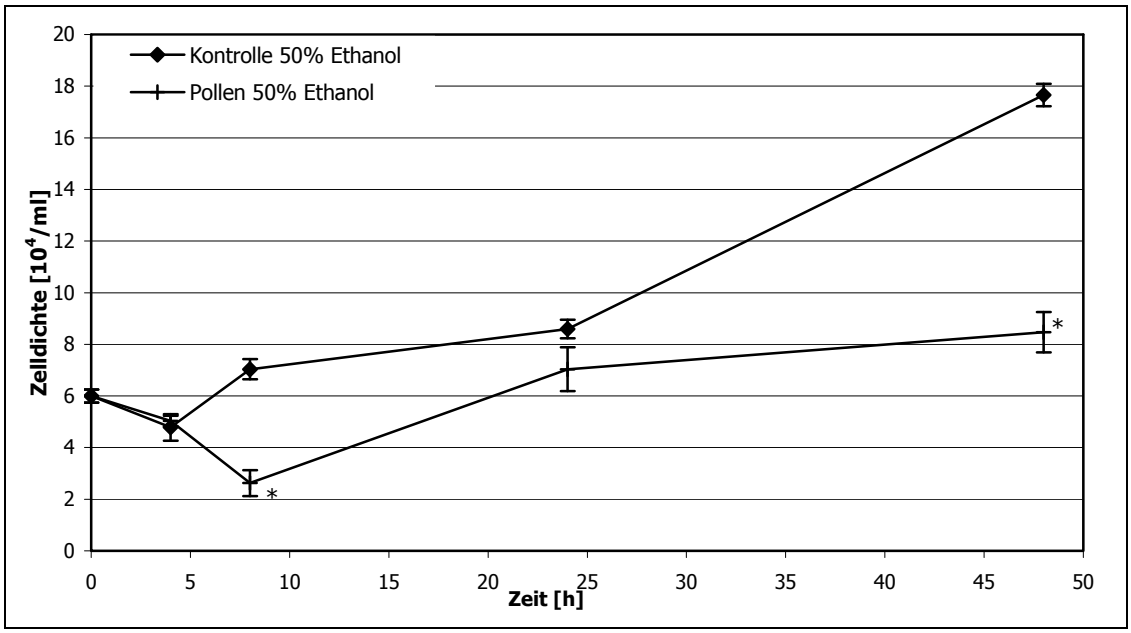


Abbildung 3: Der 50% Ethanol-Extrakt aus *Pinus massoniana*-Pollen verringert die Zellproliferation von IPI-21-Zellen im Vergleich zum Kontrollextrakt signifikant (* = $p < 0,05$)

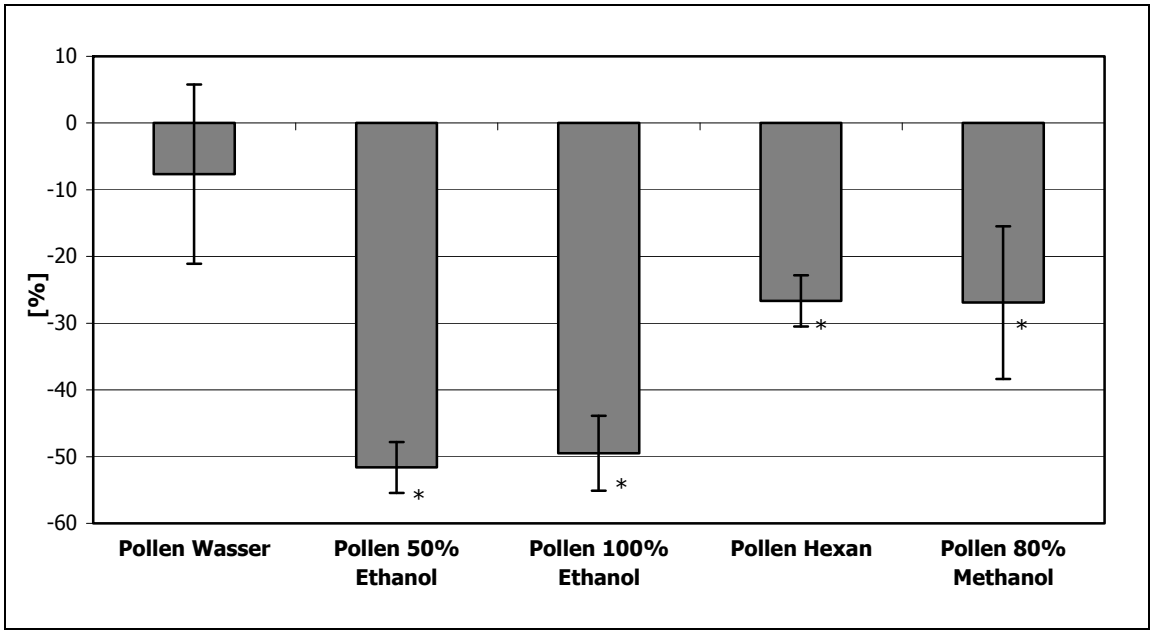


Abbildung 4: Effekte von verschiedenen *Pinus massoniana*-Pollenextrakten auf die Zellproliferation von IPI-21-Zellen nach 48h Behandlung (Normalisiert auf die jeweiligen Kontrollextrakte, * $p < 0,05$).

Eine Veränderung der Zellproliferation ist in der Regel auch von einer Veränderung der Expression von Genen begleitet, die die Proliferation, Apoptose oder Inflammation steuern. Mittels der quantitativen RT-PCR wurde versucht, die relative Expression einiger Beispielgene unter Einfluss von Pinienpollenextrakten zu bestimmen. Tabelle 3 zeigt eine Übersicht über die Ergebnisse. Alle Werte stehen für einen Mittelwert von vier gleich behandelten Wells. Die pro-apoptotische Caspase 3 wird durch den Wasser- und den 50% Ethanol-Extrakt nicht signifikant hochreguliert (5,04- bzw. 3,22-fach), während die anderen drei Extrakte zu einer nicht signifikanten Verringerung der relativen Expression führen. Pro-proliferatorisches CDK4 wird ebenfalls durch den Wasser- und den 50% Ethanol-Extrakt nicht signifikant leicht hochreguliert. Die restlichen Extrakte haben nur wenig Einfluss auf die Expression. Der 100% Ethanol-Extrakt führt zu einer signifikanten ($p < 0,05$) Verringerung der relativen IL-6-Expression auf ein Drittel des Wertes des Kontrollextrakts, während der Wasserextrakt gar keinen Einfluss auf die Expression des pro-inflammatorischen Gens zeigt. Die restlichen Extrakte führen zu nicht signifikanten Steigerungen. Das ebenfalls pro-inflammatorische IL-8 wird durch den Hexanextrakt der Pollen tendenziell ($p < 0,10$) auf das Dreifache des Kontroll-Levels hochreguliert. Ein ähnlich starker Effekt des 100% Ethanol-Extrakts lässt sich jedoch nicht statistisch bestätigen. Auch die Expression des anti-inflammatorischen TGFβ wird durch einzelne Extrakte (Wasser und 50% Ethanol) nicht signifikant hochreguliert, während die restlichen keine Effekte zeigen.

Tabelle 3: Veränderung (x-fach) der Genexpressionsprofile verschiedener Gene nach 24h Behandlung mit Pinienpollenextrakten (normalisiert auf die jeweiligen Kontrollextrakte). Fettschrift zeigt eine signifikante Änderung (*, $p < 0,05$) bzw. Eine statistisch abgesicherte Tendenz (+, $p < 0,10$).

	Caspase 3	**CDK4**	**IL-6**	**IL-8**	**TGFβ**
Wasser	5,04 ± 2,69	2,18 ± 0,98	1,07 ± 0,38	1,56 ± 1,08	2,36 ± 0,99
50% Ethanol	3,22 ± 2,85	1,73 ± 0,64	2,44 ± 1,51	0,76 ± 0,15	3,50 ± 1,62
100% Ethanol	0,51 ± 1,15	1,14 ± 0,45	**0,30 ± 0,17***	2,87 ± 1,06	1,08 ± 0,29
Hexan	0,24 ± 0,12	1,26 ± 0,56	4,47 ± 3,07	**2,99 ± 0,90+**	0,97 ± 0,64
80% Methanol	0,24 ± 0,51	1,59 ± 0,55	2,10 ± 0,57	0,76 ± 0,21	1,43 ± 0,30

Diskussion

Der Großteil der Forschungsarbeit zum Thema Pollen wurde bisher über Fütterungsexperimente geleistet. Daten über die Effekte von Pollen auf das Zellwachstum oder die Genexpression *in vitro* gibt es dagegen kaum. Die Effekte, die in Fütterungsexperimenten beobachtet worden sind, werden häufig der erhöhten Aufnahme von Zellwandkomponenten durch die zugefütterten Pollen zugeschrieben (Zhao et al., 1996). Allerdings werden auch zusätzliche Effekte der *Pinus massoniana*-Pollen vermutet (Schedle et al., 2006). Da in den vorliegenden Extrakten keine unlöslichen Zellwandbestandteile enthalten sein sollten, besteht die begründete Vermutung, dass die hier beobachteten Effekte von anderen Inhaltsstoffen ausgelöst worden sind. In anderen Studien wurden sowohl die bioaktiven Eigenschaften von Bienenpollenextrakten (Kroyer und Hegedus, 2001) als auch die anti-nozizeptiven und anti-inflammatorischen Wirkungen von *Pinus densiflora*-Pollen (Choi, 2007) mit deren hohen Gehalt an Polyphenolen begründet, die auch in den Pollen verschiedener Pinienarten festgestellt wurden (Strohl und Seikel, 1964). Polyphenole verschiedener Pflanzen waren in Zellkulturexperimenten in der Lage, die Proliferation verschiedener Zelllinien einzuschränken. Beispielsweise wurde das EGF-induzierte Zellwachstum von humanen Colonkarzinom-Zellen durch geringe Mengen von Rotwein-Polyphenolen inhibiert (Briviba et al., 2002). In der vorliegenden Studie war eine Behandlung mit 0,5% des 50% Ethanol-Pollenextrakts ausreichend, um das Zellwachstum der IPI-21-Zellen im Vergleich zur Kontrollbehandlung um 50% zu verringern. Die Ähnlichkeit der Wirkungen auf die Zellproliferation lässt dabei den Schluss zu, dass die Effekte der Pollenextrakte ebenfalls über polyphenolische Substanzen vermittelt werden könnten. Unterschiedliche Effektstärken ließen sich dabei möglicherweise über spezifische Löslichkeiten der betreffenden Stoffe in verschiedenen Lösungsmitteln erklären.

Ausbeuten verschiedener Pollenextrakte reichen in der Literatur von 8% (w/w) bei 70% Ethanol-Extrakten von *Pinus densiflora*-Pollen (Choi, 2007), bis zu 45,7% (w/w) bei Bienenpollen, die bei 60°C 4h mit Wasser extrahiert wurden (Kroyer und Hegedus, 2001). Die Extraktionen in der vorliegenden Studie wurde bei Raumtemperatur durchgeführt, um thermische Schäden der Inhaltsstoffe zu vermeiden. Um die Ausbeuten dennoch erhöhen zu können, wurden die Pollen vorher gebrochen und die Dauer der Behandlung auf 24h erhöht. Dies führte zu Extraktausbeuten von 7,8% bei Hexan und bis zu 23% bei Wasser.

Verschiedene Polyphenole zeigten sich in *in vivo* und *in vitro* Studien auch fähig, Genexpressionsprofile zu verändern. Die Expression des pro-apoptotischen Gens Caspase 3 beispielsweise wurde durch Zufütterung von polyphenolhaltigem Rotweintrester in Ileum, Colon, Milz,

Nieren und Leber von Ferkeln hochreguliert, im Jejunum aber verringert (Sehm et al., 2006). Ähnlich, wenn auch nicht signifikant, erhöhten der Wasser- und der 50% Ethanol-Extrakt der Pinienpollen die Expression von Caspase 3 in IPI-21-Zellen auf das fünf- bzw. dreifache, während die anderen drei Extrakte zu einer Verringerung der Expression auf die Hälfte bzw. ein Viertel führten. Allerdings führten alle Extrakte bis auf den Wasserextrakt zu einem verringerten Zellwachstum, was durch die Regulation der Caspase 3-Expression nur für den 50% Ethanol-Extrakt erklärt werden könnte. In einer anderen Studie führte eine Behandlung mit Polyphenolen aus Weintraubenkernen zu einer verringerten Expression des pro-proliferatorischen CDK4 in humanen Brustkrebszellen (Agarwal et al., 2000). Im Gegensatz dazu führte eine Behandlung von IPI-21-Zellen mit Wasser- und 50% Ethanol-Extrakten von *Pinus massoniana*-Pollen zu einer leichten und nicht signifikanten Steigerung der CDK4-Expression, während die Einflüsse der anderen Extrakte noch geringer ausfielen. Daher lässt sich die Veränderung des Zellwachstums auch nicht mit einer Veränderung der CDK4-Expression erklären.

Die Expression von pro- und anti-inflammatorischen Genen wird ebenfalls durch verschiedene Polyphenole verändert. So führte eine Behandlung mit Epigallocatechin-3-gallat in einer Brustkrebszelllinie zu einer Erhöhung der TGFβ-Expression (Guo et al., 2005). Im vorliegenden Fall wurde die TGFβ-Expression von IPI-21-Zellen durch den Wasser- und den 50% Ethanol-Pollenextrakt nicht signifikant erhöht. Im Gegensatz dazu verringerte eine Behandlung mit dem Polyphenol Quercetin eine Linolensäure-induzierte Expression von IL-6 in Endothelzellen aus dem Schwein (Reiterer et al., 2004). Vergleichbar dazu wurde die Expression des pro-inflammatorischen Gens IL-6 durch den 100% Ethanol-Extrakt signifikant auf ein Drittel des Kontrollwertes verringert, was eine deutliche anti-inflammatorische Wirkung dieses Extraktes andeutet. Dazu passend wurde auch eine Verringerung der Expression des pro-inflammatorischen IL-8 in humanen Colonzelllinien durch das Polyphenol Epigallocatechin-3-gallat gefunden (Porath et al., 2005). Im Gegensatz dazu führte die Behandlung von IPI-21-Zellen mit dem Hexanextrakt der Pinienpollen zu einer tendenziellen Verstärkung der IL-8-Expression. Diese Unterschiede bei der Regulation der Genexpression einzelner Gene durch verschiedene Pollenextrakte könnten möglicherweise durch unterschiedliche Polyphenole verursacht worden sein, die jeweils spezifische Wirkungen und Löslichkeitsverhalten aufweisen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Pinienpollenextrakte durchaus in der Lage sind, das Zellwachstum der ilealen Schweinezelllinie IPI-21 zu hemmen. Signifikante Veränderungen bei der Expression von Genen wurden bisher für IL-6 und in einer Tendenz auch für IL-8 festgestellt. Für die weitere Arbeit ist geplant, die Inhaltsstoffe der verwendeten Pollenextrakte genauer zu charakterisieren und die Expression weiterer Gene zu untersuchen.

Literatur

Agarwal C., Sharma Y., Zhao J., Agarwal R. (2000): A polyphenolic fraction from grape seeds causes irreversible growth inhibition of breast carcinoma MDA-MB468 cells by inhibiting mitogen-activated protein kinases activation and iducing G_1 arrest and differentiation. Clin Canc Res. 6, 2921-2930

Bouveng H.O. (1963): Polysaccharides in pollen. I. Investigation of mountain pine (*Pinus mugo turra*) pollen, Phytochemistry, Vol. 2, 341-352

Briviba K., Pan L., Rechkemmer G. (2002): Red wine polyphenols inhibit the growth of colon carcinoma cells and modulate the activation pattern of mitogen-activated protein kinases. J. Nutr. 132, 2814-2818

Choi E. (2007): Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*Pinus densiflora*) pollen extract. Phytother. Res., 21, 471-475

Guo S., Yang S., Taylor C., Sonenshein G.E. (2005): Green tea polyphenol epigallocatechin-3 gallate (EGCG) affects gene expression of breast cancer cells transformed by the carcinogen 7,12-dimethylbenz[α]antrhacene. J. Nutr. 135, 2678-2686

Kaeffer B., Bottreau E., Velge P., Pardon P. (1993): Epitheloid and fibroblastic cell lines derived from the ileum of an adult histocompatible miniature boar (d/d haplotype and immortalized by SV40 plasmid. Eur. J. Cell Biol 62, 152-162

Kroyer G., Hegedus N. (2001): Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. Innov Food Sci Emerging Tech. 2, 171-174

Lambert J.D., Hong J., Yang G., Yang C.S. (2005): Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. Am J Clin Nut 81 (suppl), 284-291

Pfaffl M.W. (2001): A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res 29, 2002-2007

Porath D., Riegger C., Drewe J., Schwager J. (2005): EGCG impairs chemokine production in human colon epithelial cell lines.

Reiterer G., Toborek M., Hennig B. (2004): Quercetin protects against linoleic acid-induced porcine endothelial cell dysfunction. J. Nutr. 134, 771-775

Schedle K., Pfaffl M., Windisch W.(2006): Modellversuch an Absetzferkeln zur Wirkung von Rohfaser auf zootechnische Leistungen und die Expression des inflammatorischen Markergens TNFα im Gastrointestinaltrakt. Tagungsband des 5. BOKU-Symposiums Tierernährung, 164-168

Scott R.W., Strohl M.J. (1962): Extraction and identification of lipids from loblolly pine pollen. Phytochemistry Vol. 1, 189-193

Sehm J., Lindermeayer H., Meyer H.H.D., Pfaffl M.W. (2006): The influence of apple- and red-wine pomace rich diet on mRNA expression of inflammatory and apoptotic markers in different piglet organs. Animal Science 82, 877-887

Strohl M.J., Seikel M.K. (1964): Polyphenols of pine pollens. Phytochemistry Vol. 4, 383-399

Zhao L., Windisch W., Kirchgeßner M. (1996): A study on the nutritive value of pollen from the Chinese Masson Pine (*Pinus massoniana*) and its effect on fecal characteristics in rats. Z. Ernährungswiss. 35, 341-347

Corresponding author

Sabine Masanetz
ZIEL - Abteilung für Physiologie
Weihenstephaner Berg 3
D-85354 Freising
e-Mail: masanetz@wzw.tum.de

Deoxynivalenol impairs Na^+-dependent glucose transport in the gastrointestinal tract of laying hens

Wageha Awad[1], Josef Böhm[1], Ebrahim Razzazi-Fazeli[1], Khaled Ghareeb[2], Jürgen Zentek[1]

[1] Institute of Animal Nutrition
[2] Institute of Animal Husbandry and Animal Welfare Department of Veterinary Public Health and Food Science, University of Veterinary Medicine, Veterinärplatz 1, A-1210 Vienna, Austria.

Introduction

Deoxynivalenol (DON) is part of the large group of toxic secondary fungal metabolites of *Fusarium* strains like *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum*. *Fusarium* molds are phytopathogenic fungi which are able to infect cereal crops in the field during their growth period. They cause various plant diseases and contamination of grain with mycotoxins. Approximately 25 % of the world's food crops are affected by mycotoxins (Rotter et al. 1996). Considering its rate of occurrence and mean concentration, DON appears to be one of the most important mycotoxins in cereal commodities (EU 2003). Chemically, DON belongs to the trichothecenes, a category of structurally similar fungal metabolites. Injury of the gastrointestinal tract, involving thickening of the mucosa of the stomach and a higher degree of folding is one important characteristic of DON toxicity (Rotter et al., 1994).

It has been experimentally shown that DON inhibited intestinal absorption of essential nutrients such as D-glucose. Furthermore, Maresca et al. (2002) reported that low concentrations (< 10 µmol/L) of DON in the digesta selectively modulates the activities of intestinal transporters in human intestinal epithelial cells, and the D-glucose/ D-galactose sodium-dependent transporter (SGLT1) was strongly inhibited by DON. Recently, it has been shown that the inhibition of Na^+ transport and Na^+-D-glucose cotransport are important mechanisms of DON toxicity in the proximal jejunum of chickens (Awad et al., 2005a, 2007). The effects of DON on intestinal transporters have largely been attributed to the inhibition of protein synthesis rather than a consequence of non specific cell damage.

The Na^+-coupled glucose uptake across SGLT1 is present in all regions of the small and large intestine of chicken and the capacity to transport glucose decreased from the proximal to distal regions of the small intestine (Obst and Diamond, 1989; Ferrer et al., 1994). In our previous study (Awad et al., 2005a), it has been shown that DON inhibited Na^+-D-glucose co-transport in the proximal jejunum of laying hens. However, the effects of DON on glucose transport in proximal and distal intestinal regions of the chicken have not yet been differentiated. Therefore, the objective of the present work was to investigate whether DON has similar effects on Na^+ dependent D-glucose transport through isolated mucosa of different segments of small and large intestine of laying hens by using the Ussing chamber technique.

Materials and methods

Animals and feeding

Lohmann Brown laying hens, 72 wk of age, were used in the present study. They weighed between 1.5 and 2 kg. The birds were purchased from a local commercial supplier (Österr. Suppenhühner Verwertungs AG, Weistrach, Austria). The hens were housed in a deep litter system. Wood shaving was used as the litter material. A commercial laying diet that contained or exceeded the levels of nutrients recommended by the National Research Council (1994) was used for approximately 3 wk. The diet contained 17.0 % crude protein, 5.0 % crude fat, 4.3 % crude fiber, 13.3 % crude ash, and 0.4 % methionine. The lighting regimen was 8 h of light. The hens were provided with their diets and water *ad libitum* for the duration of the experiment.

Electrophysiological Measurements

The electrophysiological parameters such as transmural potential difference (PD), short-circuit current (Isc), and electrical tissue resistance (Rt) were measured in a Ussing-chamber with a microprocessor system based on voltage/current clamp device. The birds were slaughtered by stunning and bleeding. The intestinal segments removed were the mid point of duodenum (duodenum), mid jejunum, distal jejunum (near from the Meckel's diverticulum), midway between Meckel's diverticulum and the ileo-ceacal junction (ileum), proximal caecum, and colon.

Each intestinal segment was opened along its mesenteric border and washed free of intestinal contents with oxygenated ice-cold Ringer buffer, which composed from the following (mmol/L): ($CaCl_2$, 1.2; $MgCl_2$, 1.2; Na_2HPO_4, 2.4; NaH_2PO_4, 0.4; $NaHCO_3$, 25; KCL, 5; NaCl, 115; Mannitol, 20). The tissue was then placed in the iced buffer until it was mounted in the chamber. The intact and nonstripped intestinal sheets were mounted in modified Ussing chambers. The tissue was bathed on both sides by 5 mL of Ringer solution. The buffer was circulated and oxygenated by a gas lift with 95% O_2 - 5% CO_2. The system was maintained at 38 °C by a constant-temperature water jacket.

PD was measured with an open-circuit and the tissue was short-circuited by passing the appropriate current through the Ag/AgCl electrodes. The solution resistance was determined before the membrane was placed in the chamber by the voltage deflection caused by a current pulse across a chamber containing the bathing solution. The transmural electrical resistance of the mucosa was determined automatically by periodically clamping the transmembrane potential to a fixed voltage (0 mV) and measuring the current required for this. All further experiments with tissues were performed in voltage-clamp mode by fixing the voltage at 0 mV. The resistance of the solution was substracted automatically from the resistance value obtained when the tissue was in place. After a tissue stabilization period (20 min), the basal measurements of PD, Isc, and R were recorded.

The first experiment investigated the effects of glucose and DON on the electrophysiolical parameters, the 5 mL of Ringer solution on the luminal side was replaced by a Ringer solution made with 5 mmol/l of D-glucose instead of mannitol. The electrical response to glucose was measured as the peak response obtained approximately 1 min after the addition of the solution. Thereafter, 10 µg DON/mL was added to the luminal side after the addition of glucose to investigate the effect of DON on Na^+-D glucose co-transporter.

The second experiment was performed to investigate the mechanisms of action of DON. The tissues were incubated with 5 mL of Ringer solution on the luminal side containing DON (50 µg DON/5 mL of Ringer solution). The electrical response was measured. Thereafter, D-glucose (5 mmol/L) was added to the luminal side after incubation of the tissues with 50 µg DON /5 mL.

Statistical analysis

Statistical program SPSS version 11.0 (SPSS GmbH®, Munich, Germany) was used for data analysis. The Kolmogorov Smirnov test was used to test the normal distribution of the data. Results are given as means ± SEM. Statistical differences between intestinal regions were established by ANOVA and subsequent Duncan´s Multiple Range Test. Repeated-measures analysis of variance procedure was used to investigate the effect of DON and glucose on the Isc and Rt (2 replicates per bird). Furthermore, a paired t-test was used between each two pairs of repetitions within the same segment. Probability values (P) of 0.05 or less were considered significant.

Results

First experiment: DON effects on tissue resistance (Rt) and short-circuit current (Isc) after D-glucose addition

The duodenum (346 ± 35 $\Omega.cm^2$) and mid-jejunum (361 ± 20 $\Omega.cm^2$) exhibited the greatest electrical resistance while the caecum and colon showed a much lower resistance (85 ± 4 $\Omega.cm^2$ and 65 ± 17 $\Omega.cm^2$). In the distal jejunum and ileum the resistance was similar (231 ± 63 $\Omega.cm^2$ and 245 ± 20 $\Omega.cm^2$). The basal Isc was very low across the duodenum (42 ± 11 $\mu A/cm^2$) and greatest in the caecum (326 ± 39 $\mu A/cm^2$) and colon (215 ± 38 $\mu A/cm^2$), ($P < 0.002$).

In the caecum and colon, glucose addition stimulated the Isc to high values, which indicates that the absorption of glucose by these regions was accompanied by a stimulation of additional cation absorption or anion secretion. The addition of D-glucose on the mucosal side produced an increase in Isc (ΔIsc) compared to the basal values in all segments. The ΔIsc after glucose addition to the large intestine was greater than the ΔIsc in the small intestine. Furthermore, the addition of 10 µg/mL DON to the mucosal solution decreased the current in all segments and the Isc returned to the basal value, especially in duodenum and mid jejunum ($P < 0.05$).

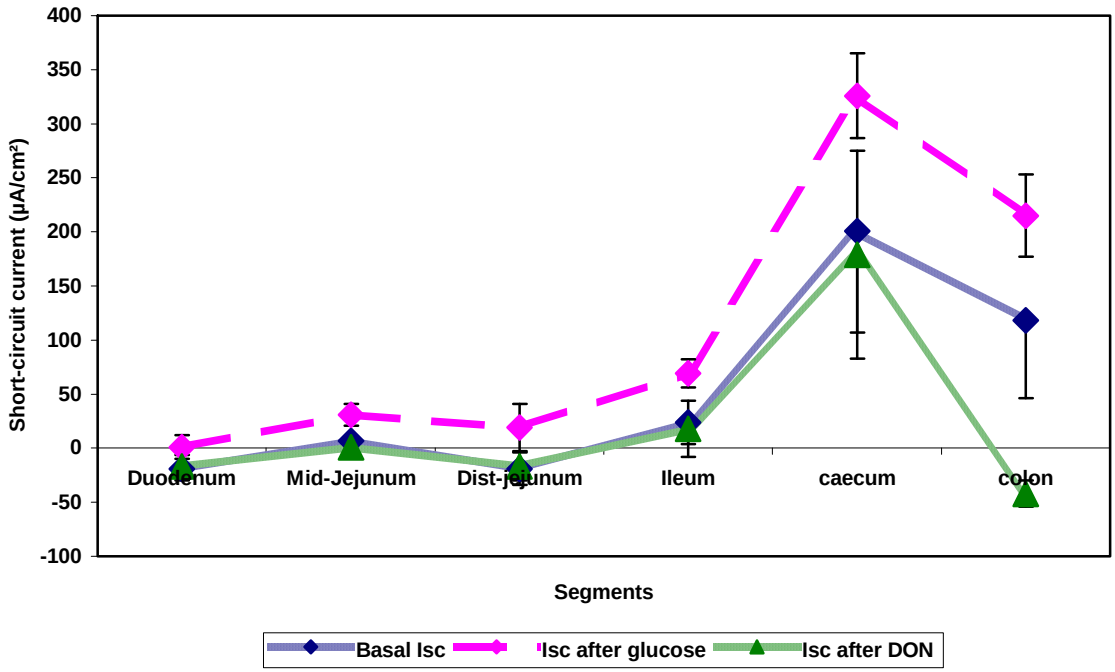


Figure 1. Short-circuit current (Isc) in isolated mucosa of laying hens after additions of D-glucose and deoxynivalenol

Second experiment: D-glucose effects on the electrical tissue resistance (Rt) and short-circuit current (Isc) after preincubation of tissues with DON

The addition of 5 mmol D-glucose /L to the mucosal side after preincubation of the tissues with DON in all segments increased the Rt ($P < 0.05$). The Isc was not affected ($P > 0.05$) by the addition of D-glucose after incubation of tissues with DON in all segments. The Isc decreased from the basal value with DON by increasing the time of incubation in duodenum and jejunum, suggesting that the blocking effects of DON in those segments were greater than the other regions of the gut.

Table 2. The electrical tissue resistance (Rt) and short-circuit current (Isc) across the isolated different epitheliums of laying hens after preincubation of tissues with DON and addition of D-glucose

Segments (n)	Basal Rt with DON	Rt after glucose	P	Basal Isc with DON	Isc after glucose	Isc after 30 min	P
Duodenum (6)	309 ± 62	389 ± 69	0.032	89 ± 39	67 ± 41	6 ± 13	0.192
Mid-Jejunum (6)	326 ± 34	399 ± 31	0.011	29 ± 20	6 ± 24	18 ± 1	0.324
Dist-jejunum (6)	172 ± 27	188 ±36	0.021	23 ± 60	28 ± 52	20 ± 49	0.699
Ileum (6)	154 ± 23	191 ± 32	0.027	-9 ± 11	-3 ± 10	-18 ± 6	0.366
Caecum (4)	88 ± 9	112 ± 22	0.092	127 ± 63	137 ± 69	95 ± 99	0.295
Colon (4)	95 ± 5	115 ± 6	0.002	-23 ± 24	-27 ± 14	-10 ± 32	0.453

Significance is $P < 0.05$, (repeated-measures ANOVA).

The results show the means ± SEM.

Discussion

It was of interest to analyze the effects of DON on the electrical properties of the different intestinal segments in the gut of chickens because former data have shown substantial decrease of glucose and proline absorption in the jejunum of poultry (Awad et al., 2004; 2005b). Therefore, the aim of present *in vitro* studies was to establish whether there are regional differences in the presence of DON on glucose transport in the small and large intestine of chickens. For this purpose, we have measured the effects of DON on the Na^+-D glucose co-transporter, by addition of DON before and after glucose addition in isolated epithelium from chicken duodenum, jejunum, ileum, caecum and colon.

Glucose and other nutrients are transported by carrier systems often in co-transport with Na^+. Therefore, if nutrients co-transported with Na^+ are added to the mucosal side of intestinal tissues, the carrier mediated transport is stimulated, with a rise in the uptake of Na^+. The carrier-mediated glucose transport has been correlated with the Isc (Tsuji et al., 1985; Shimada and Hoshi, 1986; Luppa et al., 1987; Moreto et al., 1998).

The higher Rt in the first experiment after the addition of DON to the duodenum and jejunum could be due to a relatively tighter epithelium, with a lower paracellular permeability to ions. Since, it is presumed that these transepithelial resistance increments are caused by increased paracellular resistance to ion flow.

Our data showed in all segments of the gut, that the addition of D-glucose on the luminal side of the isolated mucosa increased Isc. It has been shown that 10 mg DON /kg feed caused malabsorption of glucose from the intestine of mice (Hunder et al., 1991). In the present study, the effect of D-glucose on the Isc was reversed by DON in all segments, especially in the duodenum and in the jejunum indicating that the effect of DON are greater in the small intestine than the other regions of the gut. This could be attributed to the effect of DON on D-glucose/Na^+-dependent transporter (Maresca et al., 2002). The variations in DON effects on sugars transport recorded along the small and large intestine might correspond to changes in abundance of the SGLT1 cotransporter in this segment.

This finding substantiates former findings that the addition of D-glucose after preincubation of the tissues with DON in all segments had no measurable effect on the transepithelial current (Isc). This observation suggests that the decrease in Isc by DON in the duodenum and mid jejunum is due to a block of Na^+-D-glucose co-transport. While, the higher Rt after the addition of glucose to the preincubated tissues with DON in all segments may be due to collapse of the epithelial intercellular spaces (Madara, 1983).

In conclusion, the present study verified that all segments of the chicken's gut are able to absorb glucose via an electrogenic mechanism, i.e. SGLT1. The effect of D-glucose on Isc was either reversed or prevented by the addition of DON in all segments. The latter indicates that the DON inhibits sodium-dependent glucose transport not only in the small but also in the large intestine of laying hens.

References

Awad, W. A.; Böhm, J.; Razzazi-Fazeli, E.; Hulan, H. W.; Zentek, J., 2004: Effects of deoxynivalenol on general performance and electrophysiological properties of intestinal mucosa of broiler chickens. Poult. Sci. 83, 1964.

Awad, W. A.; Böhm, J.; Razzazi-Fazeli, E.; Zentek, J., 2005a: *In vitro* effects of deoxynivalenol on electrical properties of intestinal mucosa of laying hens. Poult. Sci. 84, 921.

Awad, W. A.; Rehman. H.; Böhm, J.; Razzazi-Fazeli, E.; Zentek, J., 2005b: Effects of Luminal Deoxynivalenol and L-Proline on Electrophysiological Parameters in the Jejunums of Laying Hens. Poult. Sci. 84, 928.

Awad, W. A.; Aschenbach, J. R.; Setyabudi, F. M. C. S.; Razzazi-Fazeli, E.; Böhm, J.; Zentek, J., 2007: In Vitro Effects of Deoxynivalenol on Small Intestinal D-Glucose Uptake and Absorption of Deoxynivalenol Across the Isolated Jejunal Epithelium of Laying Hens. Poult. Sci. 86: 21-25.

European Commission (2003), Directorate-General Health and Consumer Protection, Reports on tasks for scientific cooperation, report of experts participating in Task 3.2.10: Collection of occurance data of Fusarium toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states. http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/task3210.pdf.

Ferrer, R.; Gil, M. A.; Moreto, M.; Oliveras, M.;. Planas, J. M., 1994: Hexose transport across the apical and basolateral membrane of enterocytes from different regions of the chicken intestine. Pfluegers Arch. 426, 83.

Hunder, G.; Schumann, K.; Strugala, G.; Gropp, J.; Fichtl, B.; Forth, W., 1991: Influence of subchronic exposure to low dietary deoxynivalenol, a trichothecene mycotoxin, on intestinal absorption of nutrients in mice. Food Chem. Toxic. 12, 809.

Luppa, D.; Hartenstein, H.; Müller, F., 1987: Relation between microvilli membrane potential and glucose transport capacity of rat small intestine. Biomed. Biochim. Acta 46, 341.

Madara, J. L., 1983: Increases in guinea pig small intestinal transepithelial resistance induced by osmotic loads are accompanied by rapid alterations in absorptive-cell tight-junction structure. J. Cell Biology 79, 125.

Maresca, M.; Mahfoud, R.; Garmy, N.; Fantini, J., 2002: The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. J. Nutr. 132, 2723.

Moreto, M.; Garriga, C.; Planas, J. M., 1998: Apical and basolateral hexose transport by the intestine of the chickens adapted to low NaCl intake The Physiological Society, Guy's London Meeting. London (UK).

National Research Council, 1994: Nutrient Requirements of Poultry, 8th ed. Washington, DC: National Academy Press.

Obst, B. S.; Diamond, J. M., 1989: Interspecific variation in sugar and amino acid transport by the avian cecum. J. Exp. Zool. (Suppl.) 3, 117.

Rotter, B. A.; Thomposon, B. K.; Lessard, M.; Trenholm, H. L.; Tryphonas, H., 1994: Influence of exposure to fusarium mycotoxins on selected immunological and hematological parameters in young swine .Fundam.Appl. Toxicol. 23, 117-124.

Rotter, B. A., D. B. Prelusky, and J. J. Pestka. 1996. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). J. Toxicol. Environ. Health 48:

1-34.

Shimada, T.; Hoshi, T., 1986: A comparative study of specificity of the intestinal Na^+/sugar cotransport among vertebrates. Comp. Biochem. Physiol. A 84, 365.

Tsuji, Y.; Yamada, K.; Hosoya, N.; Moriuchi, S., 1985: Changes of sugar-evoked transmural potential differences in intestine of rats with streptozotocin-induced diabetes. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 31, 317.

Autorenanschrift

Ph. Dr. Wageha Awad
University of Veterinary Medicine Vienna,
Department of Veterinary Public Health and Food Science,
Institute of Animal Nutrition,
Veterinärplatz 1,
A-1210 Vienna, Austria.

Einsatz Real-Time PCR basierender Analytik zur molekularbiologischen Charakterisierung der Darmmikrobiota

Agnes Petersson[1], Konrad J. Domig[1], Elisabeth Moser[1], Karl Schedle[2], Wilhelm Windisch[2], Wolfgang Kneifel[1]

[1] Abteilung Lebensmittelmikrobiologie und –hygiene
[2] Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie
BOKU - Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Der Gastrointestinaltrakt des Schweins repräsentiert ein komplexes dynamisches Ökosystem, das von anaeroben grampositiven Bakterien dominiert wird. Während der Gastrointestinaltrakt vor der Geburt noch steril ist, besiedeln später geschätzte 400 – 500 Bakterienarten den Verdauungstrakt, wobei die Bakteriendichten vom proximalen zum distalen Ende zunehmen. Colon- und Fäzesproben können schließlich bis zu 10^{10} – 10^{12} Bakterienzellen pro Gramm enthalten (Konstantinov et al., 2004; Richards et al., 2005).

Die gastrointestinale Mikrobiota spielt bei einer Reihe von physiologischen, immunologischen, entwicklungs- und ernährungsrelevanten Prozessen eine große Rolle und beeinflusst dadurch die Gesundheit und die Leistungsfähigkeit des Tieres in positiver Weise (Richards et al., 2005).

Nach dem Verbot der antimikrobiellen Leistungsförderer in der Fütterung landwirtschaftlicher Nutztiere wird nach rationellen Alternativen zur Aufrechterhaltung bzw. Kontrolle der Mikrobiota gesucht, um die Tiergesundheit zu gewährleisten und damit die Grundlage für eine hohe Produktivität sicherzustellen. Der erste Schritt in der modernen Mikrobiotaforschung ist die Charakterisierung der „normalen" Mikrobiota (Vaahtovuo et al., 2007).

Bislang wurde die intestinale Mikrobiota des Schweins vor allem mit Hilfe kultureller Methoden untersucht. Diese sind zeit- und arbeitsintensiv und können nur Informationen über kultivierbare Bakterien liefern, weshalb sie einen unvollständigen Überblick über die mikrobielle Diversität bieten. Aufgrund dieser Unzulänglichkeiten der kulturellen Methoden kommen in letzter Zeit vor allem molekularbiologische Methoden zur Charakterisierung der Darmmikrobiota zum Einsatz (Inoue et al., 2005; Moura et al., 2007).

Im Zuge einer Fütterungsstudie wurden 45 Schweine mit unterschiedlichen Mengen an unlöslichen Ballaststoffen gefüttert. Ziel war es, eine schnelle und verlässliche kulturunabhängige Methode zu entwickeln, um die Auswirkungen von Futterzusätzen auf die Darmmikrobiota beobachten zu können.

Als Methode wurde die Real-Time PCR eingesetzt, die es erlaubt schnell Ergebnisse über das Vorhandensein bestimmter Bakteriengattungen bzw. -arten zu liefern und außerdem quantitative Analysen zulässt. Ausgehend von Darminhaltsproben aus Colon und Ileum wurde die DNA isoliert und auf bestimmte Bakteriengruppen hin untersucht.

Material und Methoden

Im zugrunde liegenden Projekt wurden 45 Schweine mit unterschiedlichen Mengen an unlöslichen Ballaststoffen (Weizenkleie, chinesische Pinienpollen (*Pinus massoniana*)) gefüttert (Schedle et al., 2007). Proben aus Colon und Ileum wurden in sterilen Plastiksäcken gesammelt und anaerob (Genbag anaerob, Biomerieux, Frankreich) bei -80°C gelagert. Ausgehend von diesen Proben wurde die DNA mit dem QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Deutschland) isoliert.

45 Colon- und 45 Ileumproben wurden mittels Real-Time PCR quantitativ auf die Parameter Lactobacillen, Bifidobakterien und *Bacteroides vulgatus* untersucht. Dafür wurden die folgenden Stämme als Positivkontrollen angezüchtet: *Lactobacillus rhamnosus* (DSM 20021) (MRS, 37°C, anaerob), *Bifidobacterium thermophilum* (DSM 20210) (37°C, BHI, anaerob) und *Bacteroides vulgatus* (LMG 17767) (BHI, 37°C, anaerob). Ausgehend von den angezüchteten Stämmen wurde die Dichte photometrisch bei einer Wellenlänge von 625 nm auf McFarland 1 (enspricht 10^8 KBE/ml) eingestellt und eine dezimale Verdünnungsreihe angelegt, die in der Real-Time PCR als Standardreihe diente (siehe Abbildung 1).

Die Real-Time PCR Analysen wurden mit dem Rotorgene 3000 Thermocycler (Corbett Research, Australien) durchgeführt, wobei SybrGreen als Fluoreszenzmarker verwendet wurde.

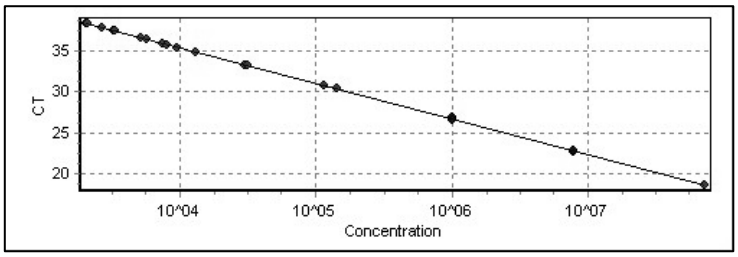
Um Lactobacillen, Bifidobakterien und *Bacterioides vulgatus* zu quantifizieren wurden die in Tabelle 1 beschriebenen Primer in der Real-Time PCR eingesetzt. Die Real-Time PCR Untersuchungen wurden unter folgenden Bedingungen durchgeführt: 3 Minuten 95°C, 35 Zyklen mit 20 Sekunden 95°C, 20 Sekunden Annealingtemperatur, 20 Sekunden 72°C. Um die Spezifität des Amplifikationsprodukts zu überprüfen wurden anschließend an den PCR-Lauf eine Schmelzkurvenanalyse sowie eine Agarosegelelektrophorese durchgeführt.

Tabelle 1: Eingesetzte Primer

Name	**Sequenz**	**Annealing**	**Literatur**
Ffu (Lactobacillen)	5´-CGA TGA GTG CTA GGT GTT GGA-3´	58°C	Fu et al., 2006
Rfu (Lactobacillen)	5´-CAA GAT GTC AAG ACC TGG TAA G-3´	58°C	Fu et al., 2006
Bif162 (Bifidobakterien)	5´-GGG TGG TAA TGC CGG ATG-3´	60°C	Kok et al., 1996
Bif662 (Bifidobakterien)	5´-CCA CCG TTA CAC CGG GAA-3´	60°C	Kok et al., 1996
Bvu-1 *(B. vulgatus)*	5´-AAG GGA GCG TAG ATG GAT GTT TA-3´	60°C	Huijsdens et al, 2002
Bvu-2 *(B. vulgatus)*	5´-CGA GCC TCA ATG TCA GTT GC-3´	60°C	Huijsdens et al, 2002

Ergebnisse und Diskussion

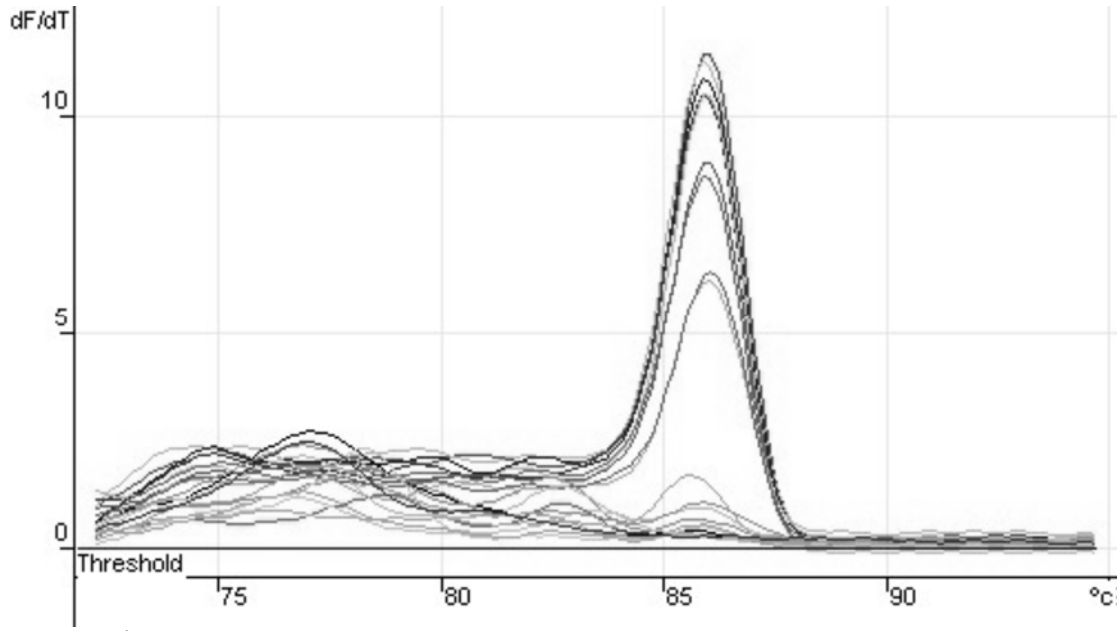
Die Real-Time PCR Ergebnisse zeigten, dass die Primer und die angeführten PCR Bedingungen für die Identifizierung von *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* und *Bacterioides vulgatus* gut geeignet sind. Die Schmelzpunktanalysen lieferten eindeutige Peaks bei Schmelzpunkten von ca. 88°C für *Lactobacillus*, ca. 92°C für *Bifidobacterium* und ca. 86°C für *Bacterioides vulgatus* (siehe Abbildung 2). Die Ergebnisse der Real-Time PCR konnten durch eine anschließend durchgeführte Agarosegelelektrophorese mit deutlich sichtbaren Banden bei 186 bp für *Lactobacillus*, 523 bp für *Bifidobacterium* und ca. 200 bp für *Bacterioides vulgatus* bestätigt werden (siehe Abbildung 3).



x-Achse: Konzentration in KBE/ml
y-Achse: CT-Wert: Zahlenwert des Schnittpunkts von Amplifikationskurve und Tresholdlinie

Abbildung 1: Standardkurve zur Bestimmung der Keimzahlen

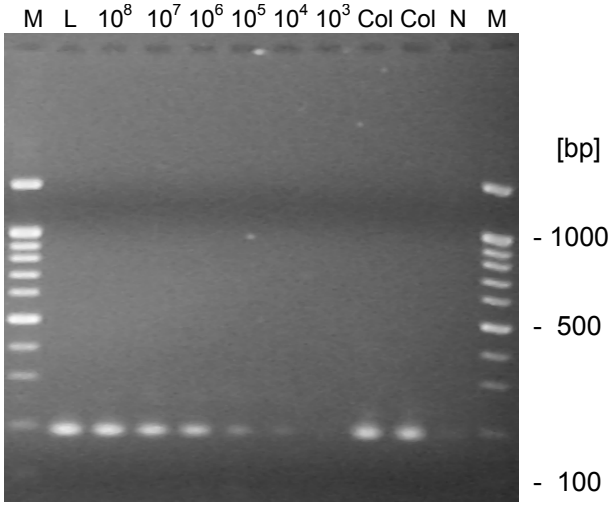
In Abbildung 2 ist eine anschließend an die PCR durchgeführte Schmelzpunktanalyse der PCR Produkte von unterschiedlichen Konzentrationen an *Bacteroides vulgatus* dargestellt. Die spezifischen Peaks bei ca. 86°C bestätigen die Amplifikation von *Bacteroides vulgatus*, wobei die Konzentration des Stammes mit der Höhe des Peaks korreliert.



x-Achse: Temperatur in °C
y-Achse: dF/dT: Erste Ableitung – Änderungsrate (d) der Fluoreszenz (F) bezogen auf die Zeit (T)

Abbildung 2: Real-Time PCR Schmelzpunktbestimmung der PCR-Produkte von *Bacteroides vulgatus*

In Abbildung 3 ist eine zur Kontrolle der Real-Time PCR Produkte durchgeführte Gelelektrophorese der Lactobacillen Standardreihe bzw. PCR Produkte von Colonproben, die auf Lactobacillen untersucht wurden sowie die Negativkontrolle gezeigt.



MMarker
LPositivkontrolle (*L. rhamnosus*)
10^8 - 10^3Verdünnungsreihe von *L. rhamnosus*: 10^8 KBE/ml – 10^3 KBE/ml
ColColonprobe
NNegativkontrolle

Abbildung 3: Gelelektrophorese zur Kontrolle der Real-Time PCR Produkte

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen mittels Real-Time PCR und kultureller Methode auszugsweise angeführt.

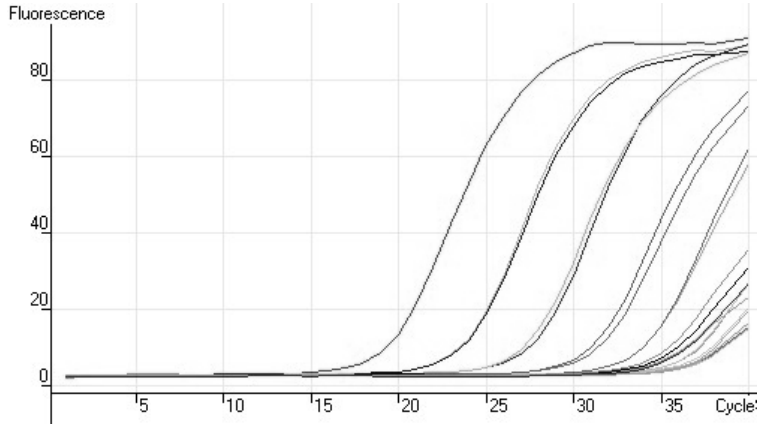
Tabelle 2: Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen mittels Real-Time PCR (Auszug) verglichen mit den Ergebnissen der Kulturmethode

Tier	**Probe**	**Lactobacillen**		**Bifidobakterien**		***B. vulgatus***
		(KBE/g Probe)		(KBE/g Probe)		(KBE/g Probe)
		Real-Time PCR	Kultur	Real-Time PCR	Kultur	Real-Time PCR
2	Colon	$3{,}25 * 10^9$	$4{,}64 * 10^9$	$2{,}63 * 10^7$	$4{,}36 * 10^8$	$9{,}22 * 10^5$
2	Ileum	$2{,}15 * 10^8$	$1{,}05 * 10^7$	$6{,}76 * 10^6$	$2{,}34 * 10^6$	-
5	Colon	$2{,}15 * 10^9$	$4{,}91 * 10^9$	$6{,}76 * 10^6$	$8{,}06 * 10^8$	$8{,}21 * 10^4$
5	Ileum	$3{,}58 * 10^7$	$2{,}39 * 10^8$	$5{,}27 * 10^5$	$2{,}91 * 10^7$	$2{,}94 * 10^4$
24	Colon	$1{,}16 * 10^9$	$3{,}53 * 10^9$	$2{,}82 * 10^6$	$1{,}96 * 10^8$	$2{,}08 * 10^5$
24	Ileum	$6{,}81 * 10^7$	$3{,}00 * 10^8$	$9{,}30 * 10^5$	$5{,}08 * 10^7$	$1{,}67 * 10^4$

Die mittels Real-Time PCR erhaltenen Keimzahlergebnisse für Lactobacillen korrelieren sehr gut mit den durch die traditionelle Kulturmethode ermittelten Werten. Diese Resultate stimmen gut mit den Schlußfolgerungen von Fu et al. (2006) und Furet et al. (2004) überein, die bei ihren Untersuchungen auch keine signifikanten Unterschiede zwischen Real-Time PCR Ergebnissen und Ergebnissen der Kulturmethode bei der Quantifizierung von Lactobacillen finden konnten.

Beim Vergleich der Keimzahlen der Bifidobakterien lassen sich größere Unterschiede zwischen den zwei Methoden feststellen, die auch Bartosch et al. (2005) und Lahtinen et al. (2006) beschrieben.

Um die Verlässlichkeit des kommerziellen DNA-Isolierungskits und der PCR-Methode zu überprüfen, wurde ein Wiederfindungsversuch durchgeführt. Dazu wurden Ileumproben, in denen *Bacteroides vulgatus* nicht nachgewiesen werden konnte, mit verschiedenen Konzentrationen dieses Stammes versetzt. Nach Durchführung der DNA-Isolierung konnten mittels Real-Time PCR und zusätzlicher Absicherung durch eine Gelelektrophorese *Bacteroides vulgatus* in den Ileumproben bis hinunter zu 25 KBE/PCR-Ansatz, das entspricht $1x10^4$ KBE/ml nachgewiesen werden. Abbildung 4 zeigt den Anstieg der Fluoreszenz gegen die Zeit, wobei Proben mit hoher Konzentration an *Bacteroides vulgatus* zuerst ansteigen.



x-Achse: Anzahl der PCR-Zyklen
y-Achse: Fluoreszenzintensität

Abbildung 4: Real-Time PCR mit verschiedenen Konzentrationen an *Bacteroides vulgatus*

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass die Real-Time PCR ein ausgezeichnetes Werkzeug zur quantitativen Untersuchung von bekannten Mikroorganismengruppen der komplexen Darmmikrobiota darstellt. Bekannte Mikroorganismengruppen deshalb, da spezifische Primer-sequenzen für den gezielten PCR-Nachweis notwendig sind.

Danksagung
Kernbereiche dieser Arbeit wurden dankenswerterweise von der H. Wilhelm Schaumann Stiftung (Hamburg, Deutschland) finanziert (Forschungsstipendium für Agnes Petersson und Laborverbrauchsmaterial).

Literatur

Bartosch, S., Woodmansey, E.J., Paterson, J.C.M., McMurdo, M.E.T. and Macfarlane, G.T. (2005). Microbiological effects of consuming a synbiotic containing *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, and oligofructose in elderly persons, determined by real-time polymerase chain reaction and counting of viable bacteria. Clinical Infectious Diseases 40: 28 – 37.

Fu, C.J., Carter, J.N., Li, Y., Porter, J.H. and Kerley, M.S. (2006). Comparison of agar plate and real-time PCR on enumeration of *Lactobacillus*, *Clostridium perfringens* and total anaerobic bacteria in dog faeces. Letters in Applied Microbiology 42: 490 – 494.

Furet, J.-P., Quénée, P. and Tailliez, P. (2004). Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. International Journal of Food Microbiology 97: 197 – 207.

Huijsdens, X.W., Linskens, R.K., Mak, M., Meuwissen, S.G.M., Vandenbroucke-Grauls, C.M.J.E. and Savelkoul, P.H.M. (2002). Quantification of bacteria adherent to gastrointestinal mucosa by real-time PCR. Journal of Clinical Microbiology 40: 4423 – 4427.

Inoue, R., Tsukahara, T., Nakanishi, N. and Ushida, K. (2005). Development of the intestinal microbiota in the piglet. The Journal of General and Applied Microbiology 51: 257-265.

Kok, R.G., De Waal, A., Schut, F., Welling, G.W., Weenk, G. and Hellingwerf, K.J. (1996). Specific detection and analysis of a probiotic *Bifidobacterium* strain in infant feces. Applied and Environmental Microbiology 62: 3668 – 3672.

Konstantinov, S.R., Favier, C.F., Zhu, W.Y., Williams, B.A., Klüß, J., Souffrant, W.-B., De Vos, W.M., Akkermans, A.D.L. and Smidt, H. (2004). Microbial diversity studies of the porcine gastrointestinal ecosystem during weaning transition. Animal Research 53: 317-324.

Lahtinen, S.J., Gueimonde, M., Ouwehand, A.C., Reinikainen, J.P. and Salminen, S.J. (2006). Comparison of four methods to enumerate probiotic bifidobacteria in a fermented food product. Food Microbiology 23: 571 – 577.

Moura, P., Simoes, F., Gírio, F., Loureiro-Dias, M.C. and Esteves, M.P. (2007). PCR monitoring of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* dynamics in fermentations by piglet intestinal microbiota. Journal of Basic Microbiology 47: 148 – 157.

Schedle, K., Plitzner, C., Zhao, L., Domig, K.J. and Windisch, W. (2007). Effects of dietary insoluble fiber from wheat bran and Chinese pine pollen on gut microbiology and nutrient digestibility using weaned piglets as animal model. Journal for Land Management, Food and Environment (submitted).

Richards, J.D., Gong, J. and De Lange, C.F.M. (2005). The gastrointestinal microbiota and its role in monogastric nutrition and health with an emphasis on pigs: Current understanding, possible modulations, and new technologies for ecological studies. Canadian Journal of Animal Science 85: 421-435.

Vaahtovuo, J., Korkeamäki, M., Munukka, E., Hämeenoja, P. and Vuorenmaa, J. (2007). Microbial balance index – A view on the intestinal microbiota. Livestock Science 109: 174 – 178.

Autorenanschrift

DI Agnes Petersson
Abteilung Lebensmittelmikrobiologie und –hygiene
Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Strasse 33, A-1180 Wien
E-mail: agnes.petersson@boku.ac.at

Inulin und Lactulose in der Kälbermast - Auswirkungen auf Futteraufnahme und Leistung

W. Preißinger[1], C. Büttel[2], A. Obermaier[1], S. Masanetz[3] und M. W. Pfaffl[3]

[1] Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
[2] Fachhochschule Weihenstephan, Fachbereich Landwirtschaft Triesdorf
[3] Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan

Einleitung

Inulin und Lactulose zählen in der Tierernährung zu den prebiotisch wirkenden Substanzen. Es handelt sind dabei um unverdauliche Nahrungsbestandteile, die das Tier gesundheitsfördernd beeinflussen, indem sie Wachstum und Aktivität bestimmter Darmbakterien stimulieren (Gibson und Roberfroid, 1995). Der wissenschaftliche Nachweis gesundheitlicher Wirkungen von Prebiotika ist schwierig, es gilt nur ein Teil der Wirkungen als wissenschaftlich gesichert. Neben den gesundheitlichen Aspekten sind auch die Auswirkungen auf Leistungsparameter von Interesse. Hierzu wurden bei Schweinen, insbesondere bei Ferkeln, zahlreiche Untersuchungen mit z. T. unterschiedlichen Ergebnissen durchgeführt. In einer Übersichtsarbeit von Flickinger et al. (2003) ist der Einsatz einer Reihe von Prebiotika bei verschiedenen Nutztieren dargestellt.

Für das Kalb liegen nur wenige Untersuchungen mit prebiotisch wirkenden Substanzen vor, Versuche mit Inulin fehlen weitgehend. In der vorliegenden Arbeit soll ausgehend von Untersuchungen von Preißinger et al. (2005) und Feige et al. (2005, 2007) der Einfluss von Lactulose und Inulin auf Futteraufnahme, Leistung und Gesundheit von Mastkälbern untersucht werden.

Material und Methoden

Der Versuch wurde mit 42 männlichen Kälbern der Rasse Deutsche Holstein im Fresseraufzuchtstall der Versuchsstation Karolinenfeld der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) von Oktober 2006 bis Februar 2007 durchgeführt. Die Kälber wurden nach Lebendmasse, Alter und Abstammung gleichmäßig auf drei Gruppen mit je 14 Tieren aufgeteilt. Zu Versuchsbeginn waren die Kälber im Mittel 22 Tage alt und hatten eine Lebendmasse von 53 kg.

Die Tiere erhielten über Tränkeabrufstationen (Fa. Förster) ein Milchaustauscherfutter I für Mastkälber nach Plan (Abbildung 1) zugeteilt. Der Tränkeplan begann bei einer Konzentration von 125 g Milchaustauscher (MAT)/l, welche auf maximal 200 g MAT/l bis zum Versuchsende gesteigert wurde. Die Tränkemengen lagen zu Versuchsbeginn bei 6 l/Tier und Tag und wurden auf bis zu 16 l/Tier und Tag gegen Versuchsende erhöht. Zusätzlich wurden pro Tier und Tag bis zu 300 g Heu angeboten. Die Kälber wurden auf Stroh gehalten, so dass die Aufnahme von Einstreu nicht ausgeschlossen werden konnte. Dem MAT wurde Lactulose (Gruppe L) bzw. Inulin (Gruppe I) im Austausch gegen

Molkenpulver (Kontrolle, Gruppe K) in einer Höhe von 2 % zugesetzt. Die MAT wurden von der Fa. Trouw Nutrition, Deutschland nach Anweisung ohne Zusatz eines Probiotikums hergestellt. Der MAT der Kontrollgruppe setzte sich laut Hersteller wie folgt zusammen: 50,2 % Magermilchpulver, 23,3 % Molkenpulver, 20,0 % Pflanzenöl (Palm-, Kokos-, Sojaöl), 5,4 % Weizenquellstärke und 0,1 % L-Lysin-Monohydrochlorid.

Die MAT wurden tierindividuell zugeteilt und die täglich abgerufenen Mengen aufgezeichnet. Der Verzehr an Heu wurde gruppenweise aus der Differenz zwischen Ein- und Rückwaage ermittelt. Die Lebendmasse der Tiere wurde wöchentlich erfasst.

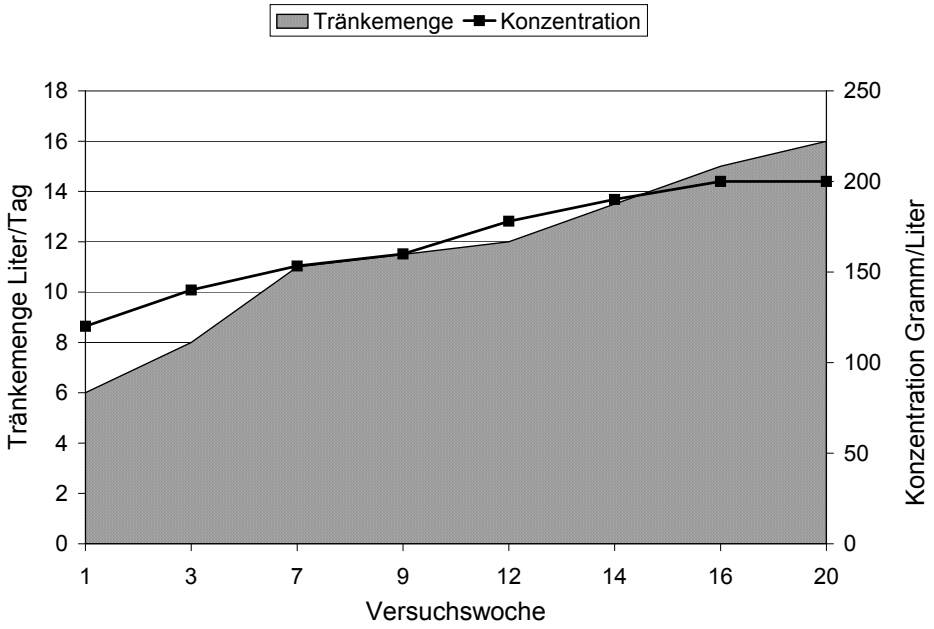


Abbildung 1: Tränkemenge und MAT-Konzentration während des Versuchs

Die Schlachtung der Tiere erfolgte im Schlachthaus Grub an zwei Terminen, wobei am 1. Termin die sieben schwersten Tiere jeder Gruppe geschlachtet wurden. Die Schlachtkörperbewertung wurde durch den Fleischprüfring Bayern nach dem EUROP-System vorgenommen. Zusätzlich wurde der Anteil an Nierenfett ermittelt.

Zur Beurteilung der Tiergesundheit wurden die Einträge im gesetzlich vorgeschriebenen Bestandsbuch ausgewertet sowie Messungen der Körpertemperatur rektal (Woche 2 – 6) und sublingual am Tränkeautomaten über den gesamten Versuchszeitraum durchgeführt. Die rektale Messung diente zur Überprüfung der sublingualen Körpertemperaturmessung.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programmpaket SAS. Es wurden die Tiermittelwerte varianzanalytisch verrechnet.

Das statistische Modell lautete: y = Behandlung + Rest.

Statistisch gesicherte Abweichungen der Mittelwerte ($p \leq 0,05$) wurden mit unterschiedlichen Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse

Die Energie- und Rohnährstoffgehalte der eingesetzten Futtermittel einschließlich der Einstreu (Stroh) sind Tabelle 1 zu entnehmen. Die Rohnährstoffgehalte der MAT variierten nur geringfügig. Die Werte für Rohfett bzw. Rohprotein lagen mit 208 bis 211 g/kg TM bzw. 225 bis 230 g/kg TM eng beieinander. Der Zusatz von Prebiotika spiegelte sich nur leicht im Rohfasergehalt wider. Dieser war bei Zusatz von Inulin (MAT-I) bzw. Lactulose (MAT-L) mit 6 bzw. 4 g/kg TM etwas höher als im Kontrollfutter (MAT-K) mit 2 g/kg TM. Bei allen MAT wurden die Normvorgaben erfüllt. Eine analytische Bestimmung der tatsächlich erreichten Gehalte an Inulin bzw. Lactulose in den MAT-Varianten wurde nicht durchgeführt. Es wurden die entsprechend der Mischungsanweisung kalkulierten Werte unterstellt.

Tabelle 1: Rohnährstoff- und Energiegehalte der eingesetzten Futtermittel

		MAT-K	**MAT-I**	**MAT-L**	**Heu**	**Stroh**
TM	g/kg	959	963	960	880	892
Rohasche	g/kg TM	73	73	70	39	32
Rohfett	g/kg TM	208	210	211	15	13
Rohfaser	g/kg TM	2	6	4	323	460
Rohprotein	g/kg TM	229	225	230	112	35
Energie	MJ ME/kg TM	16,9#	16,9#	17,0#	9,5	6,9

#) berechnete Werte mit dem Programm Zifo (Zielwert-Futter-Optimierung)

In Tabelle 2 sind die ermittelten Futter- und Rohnährstoffaufnahmen dargestellt. In den Gruppen K und I wurden im Mittel etwa 1700 g TM MAT pro Tier und Tag aufgenommen.

Mit durchschnittlich 1581 g/Tag lag die Aufnahme in Gruppe L deutlich niedriger. Der Heuaufnahme war mit 214 bis 225 g TM pro Tier und Tag im Mittel des Versuchs in allen Gruppen nahezu gleich. Aufgrund der höheren MAT-Aufnahmen in Gruppe K und I wurden höhere Energie- und Rohproteinaufnahmen ermittelt. Gegenüber Gruppe L wurden durchschnittlich pro Tier und Tag 3 MJ ME und 31 g bzw. 25 g Rohprotein mehr aufgenommen.

Tabelle 2: Durchschnittliche tägliche Futter- und Nährstoffaufnahme (n=14)

	Gruppe K	**Gruppe I**	**Gruppe L**
Aufnahme MAT (g TM)	$1709^{a} \pm 117$	$1702^{a} \pm 128$	$1581^{b} \pm 181$
Aufnahme Heu (g TM)#	225	214	219
Energieaufnahme (MJ ME)#	32	32	29
Rohproteinaufnahme (g)#	424	418	393

ermittelt aus Gruppenmittelwerten (n=1)

Tabelle 3 zeigt die im Versuch erzielten Tageszunahmen sowie die Lebendmassen zu Beginn und Ende des Versuchs. Ausgehend von einer durchschnittlichen Lebendmasse von 53 kg in allen Gruppen wurden in Gruppe K bzw. I bei Versuchsende im Mittel 211 kg bzw. 220 kg realisiert. Demgegenüber lag bei gleicher Versuchsdauer das durchschnittliche Mastendgewicht in Gruppe L bei nur 201 kg. Daraus errechneten sich für die Gruppen K, I und L mittlere Tageszunahmen von 1203 g, 1269 g und 1124 g. Der Unterschied zwischen Gruppe I und L erwies sich als statistisch signifikant.

Der Ausschlachtungsgrad lag im Mittel bei 55 % für alle Gruppen. Beim Parameter Zweihälftengewicht zeigte sich ein ähnliches Bild wie bei der Mastleistung. Gruppe I und L unterscheiden sich signifikant. Während Schlachtkörper von Gruppe I durchschnittlich 116 kg erreichten, brachten die der Gruppe L im Mittel 10 kg weniger auf die Waage. Mit 112 kg lagen die Schlachtkörper der Gruppe K dazwischen. Ein weiteres statistisch abzusicherndes Merkmal war die Masse des bei der Schlachtung entfernten Nierenfettes. Schlachtkörper der Gruppen K und L wiesen im Schnitt 2,8 kg Nierenfett auf, in Gruppe I betrug der Nierenfettanteil durchschnittlich 3,4 kg.

Für die Handels- und Fettklassen als nicht lineare Parameter wurde keine varianzanalytische Auswertung durchgeführt. Die Schlachtkörper wurden ausschließlich in die Handelsklassen O und P sowie in die Fettklassen 1 und 2 eingereiht. Die Kontrollgruppe hatte mit 7 Schlachtkörpern den geringsten Anteil an der Handelsklasse P.

Tabelle 3: Mast- und Schlachtleistungsmerkmale (n = 14)

		Gruppe K	**Gruppe I**	**Gruppe L**
Lebendmasse, Versuchsbeginn (kg)		53 ± 6	53 ± 5	53 ± 6
Lebendmasse, Versuchsende Stall (kg)		211^{ab} ± 17	220^{a} ± 9	201^{b} ± 19
Zunahmen (g/Tag)		1203^{ab} ± 152	1269^{a} ± 101	1124^{b} ± 178
Lebendmasse am Schlachthof (kg)		203^{ab} ± 17	212^{a} ± 9	192^{b} ± 18
Zweihälftengewicht (kg)		112^{ab} ± 9	116^{a} ± 5	106^{b} ± 10
Nettozunahmen ab Geburt (g/Tag)		724 ± 78	752 ± 55	687 ± 79
Nierenfett (kg)		$2,8^{b}$ ± 0,7	$3,4^{a}$ ± 0,6	$2,8^{b}$ ± 0,8
Handels- u. Fettklassen (n)	O1 / O2	1 / 6	-- / 5	1 / 5
	P1 / P2	4 / 3	4 / 5	6 / 2
Handelsklasse (n)	O / P	7 / 7	5 / 9	6 / 8
Fettklasse (n)	1 / 2	5 / 9	4 / 10	7 / 7

Der Verlauf der am Tränkenuckel (sublingual) und rektal gemessenen Körpertemperatur ist in Abbildung 2 dargestellt. Während des gesamten Vergleichs zeigte sich bei der Messung am Tränkenuckel eine um ca. 0,3°C höhere Körpertemperatur. Mit Ausnahme der Gruppe L in Versuchswoche 6 war der Verlauf der Körpertemperatur in den Versuchsgruppen bei beiden Messverfahren stimmig, so dass ab Versuchswoche 6 auf das Verfahren am Tränkeautomaten umgestellt wurde.

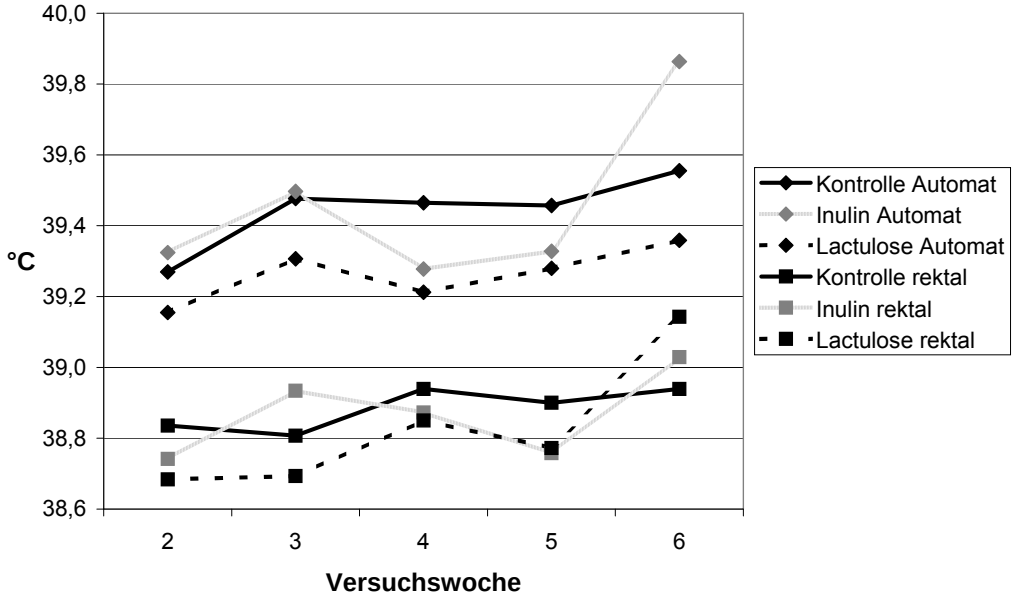


Abbildung 2: Verlauf der Körpertemperatur während der Versuchswochen 2 – 6 (Messung rektal und am Tränkeautomaten)

Abbildung 3 zeigt den Verlauf der Körpertemperatur ab Versuchswoche 6. Kontroll- und Lactulosegruppe wiesen kaum nennenswerte Schwankungen auf. Gruppe I fiel durch einen niedrigeren Temperaturwert in den Wochen 7 bis 10 auf. Ab Versuchswoche 11 hatten die Tiere der Gruppe L im Mittel die niedrigsten Körpertemperaturen. Im Durchschnitt betrug die Körpertemperatur bis zum Schlachttag 38,9°C. Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht zu erkennen.

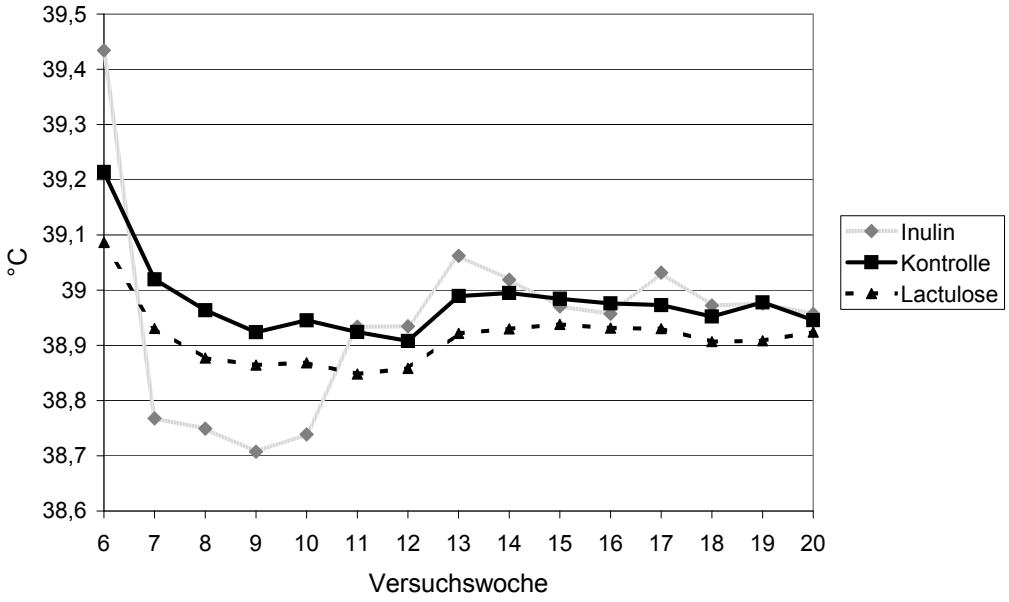


Abbildung 3: Verlauf der Körpertemperatur ab Versuchswoche 6 (Messung am Tränkenuckel)

Anhand des Bestandsbuches wurde die Häufigkeit der Medikation, die spezifisch verabreicht wurde, erfasst und mit dem Kosten der eingesetzten Medikamente multipliziert. In Gruppe L erkrankten 6 Tiere die 21 Behandlungen zur Folge hatten. In Gruppe I waren es 7 Tiere mit 22 Behandlungen und in Gruppe L 3 Tiere mit 12 Behandlungen. Mit 31 € bzw. 28 € waren die Tierarzneimittelkosten bei den Versuchsgruppen niedriger als in der Kontrollgruppe mit 47 €.

Auf Grundlage der tatsächlich realisierten Fleischpreise wurden die Schlachterlöse der Mastkälber errechnet. In Gruppe K bzw. I wurden pro Kalb durchschnittlich 285 € bzw. 284 € erzielt. In Gruppe L lag der Erlös mit im Mittel 266 € deutlich niedriger.

Den Erlösen standen Kosten für das Kalb, den MAT-Verbrauch und den Tierarzt gegenüber. Die Kosten für die eingesetzten Prebiotika konnten wegen fehlender Daten nur für Lactulose erhoben werden. Diese beliefen sich auf 190 €/t MAT. Diesen zusätzlichen Aufwendungen standen in vorliegender Untersuchung sogar geringere Erlöse als in der Kontrollgruppe gegenüber.

Aufgrund nahezu gleicher Leistungen und Erlöse wie in der Kontrollgruppe, zeigte auch das Inulinpräparat wirtschaftlich kein Vorteile, unabhängig von den dafür anzusetzenden Kosten.

Diskussion

In Arbeiten mit Ferkeln zeigten sich bei Einsatz von Prebiotika, meist Fructooligosacchariden, keine bzw. nur geringfügige positive Effekte auf Futteraufnahme, tägliche Zunahmen und Futterverwertung (Farnworth et al., 1992; Howard et al., 1995; Lindermayer und Propstmeier, 2002; Ettle et al. 2005; Ettle und Roth, 2005). Von signifikant verbesserten Aufzuchtleistungen bei Ferkeln nach Einsatz von Prebiotika (Lactulose) bei Sauen im peripartalen Zeitraum sowie in den ersten 21 Lebenstagen der Ferkel berichtet Işik (2004).

Beim Kalb liegen insgesamt wenige Arbeiten vor. In eigenen Arbeiten (Preißinger et al., 2005; Feige et al., 2005, 2007) wurde der Einfluss unterschiedlich hoher Lactulosezulagen (1 bzw. 3 % im MAT) auf Darmgesundheit und Leistung geprüft. Bei 3 % Lactulose im MAT lagen mit 1350 g gegenüber 1288 g in der Kontrolle die Tageszunahmen in der Tendenz etwas höher. Im eingesetzten handelsüblichen MAT waren 1,05 Mrd. KbE Enterococcus faecium je kg MAT zugesetzt, so dass in diesem Zusammenhang auch synbiotische Wirkungen zu diskutieren sind. Ähnlich sind Ergebnisse von Donovan et al. (2002) zu interpretieren, die nach Verabreichung eines Präparates aus verschiedenen Fructooligosacchariden und darmaktiven Mikroben von vergleichbaren Leistungen berichten wie nach Einsatz antibiotischer Leistungsförderer. Kaufhold et al. (1999) stellten bei vier Wochen alten Kälbern durch Zulage von Fructooligosacchariden in der Tendenz verbesserte tägliche Zunahmen (1,74 gegenüber 1,58 kg/Tag) fest. Mit nur sieben Tieren pro Behandlung war die Anzahl der Tiere sehr gering. Auch Quigley et al. (2002) berichten von höheren Tagezunahmen nach Einsatz von Fructooligosacchariden und Rinderserum. In vorliegender Untersuchung waren die Tageszunahmen bei Einsatz von Inulin gegenüber der Kontrollgruppe ebenfalls in der Tendenz gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Zu diskutieren ist die verminderte MAT- Aufnahme in der Gruppe mit Lactulose, die im Wesentlichen für die geringen Leistungen in dieser Gruppe verantwortlich sein dürfte. In vorausgegangenen Untersuchungen konnte bei Dosierungen von 1 % und 3 % Lactulose im MAT keine Verminderung von Futteraufnahme und Leistung festgestellt werden (Preißinger et al., 2005). In beiden Versuchen lagen gute, in der Praxis übliche Haltungsbedingungen vor. Die Versuche wurden im gleichen Stall durchgeführt, der Bezug von MAT und Lactulose erfolgte von den gleichen Firmen. Die Dosierung der Lactulose war in vorliegender Untersuchung so gewählt, dass sie zwischen denen des vorausgegangenen Versuches lag. In beiden Experimenten wurde ein MAT des gleichen Typs und gleicher Zusammensetzung eingesetzt, einziger Unterschied der Verzicht auf das Probiotikum (Enterococcus faecium) in vorliegender Arbeit.

Möglicherweise spielen synbiotische Effekte von Pro- und Prebiotika eine Rolle. Flickinger et al. (2003) berichten über verbesserte Tageszunahmen bei Einsatz von 0,2 – 0,5 % Fructanen im MAT. Dieser Effekt lies sich durch Zugabe von Lactobazillen noch steigern.

Schlussfolgerung

Um synbiotische Wirkungen von Pre- und Probiotika zu erforschen, sind weitere Untersuchungen beim Kalb notwendig. Insbesondere ist die Auswahl und Dosierung von Pre- und Probiotika zu beachten.

Da in der Praxis häufig MAT mit Probiotika eingesetzt werden, ist der Wirtschaftlichkeitsvergleich der vorliegenden Untersuchung ohne diesen Zusatz in der Kontrollgruppe nur bedingt aussagefähig.

Literatur

Donovan D.C., Franklin S.T., Chase C.C.L., Hippen A.R. (2002): Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or Enteroguard. J. Dairy Sci., 947 –950

Ettle T., Frank M., Roth F.X. (2005): Zur präbiotischen Wirkung von Fructooligosacchariden bei Ferkeln. Tagungsband 4. BOKU-Symposium Tierernährung, Wien 27.10.2005, S. 211 – 215

Ettle T., Roth F.X. (2005): A comparative evaluation of the nutritive efficacy of sorbic acid, probiotic or prebiotic additives and of combinations of these substances in the weanling piglet. Proc. Soc. Nutr. 14, 71

Farnworth E.R., Modler H.W., Jones J D., Cave N., Yamazaki H., Rao A.V. (1992): Feeding Jerusalem artichoke flour rich in fructooligosaccharides to weanling pigs. Can. J. Amin. Sci. 977 – 980

Flickinger E.A., Van Loo J., Fahey G.C. Jr (2003): Nutritional Responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animal: a review: Crit. rev. food sci. nutr., 19 – 60

Fleige S., Preißinger W., Meyer H.H.D., Pfaffl M.W. (2005): Einfluss einer synbiotischen Fütterung mit Lactulose und Enterococcus faecium auf die Darmgesundheit bei Milchmastkälbern, Milchkonferenz 2005, 29./30. 09.2005 Kiel

Fleige S., Preißinger W., Meyer H.H.D., Pfaffl M.W. (2007): Effects of lactose on growth performance and intestinal morphology of pre-ruminant calves using a milk re-placer containing Enerrococcus faecium. Animal 1, 367 – 373

Gibson G.R., Roberfroid M.B. (1995): Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutrition 125: 1401–1412

Howard M.D., Gordon D.T., Pace L.W., Garleb K.A., Kerley M.S. (1995): Effect of dietary supplementation with fructooligosaccharides on colonic microbiota populations and epithelial cell proliferations in neonatal pigs. J. Pediatr. Gastroenerol. Nutr. 297 - 303

Işik K. (2004): Untersuchungen zur präbiotischen Wirkung von Lactulose auf die Mikroflora des Magen–Darm–Traktes von Sauen im peripartalen Zeitraum. Diss Uni Leipzig

Kaufhold J., Hammon H.M., Blum J.W. (2000); Fructo-Oligosaccharide Supplementation: Effects on Metabolic, Endocrine and Hematological Traits in Veal Calves. J. Vet. Med. A, 17 – 19

Lindermayer H., Propstmeier G. (2002): Präbiotika im Ferkelfutter getestet, SUS 2/2002, 26

Preißinger W., Pfaffl W.M., Obermaier A., Hitzlsperger L. (2005): Lactulose in der Kälbermast - Auswirkungen auf Futteraufnahme und Leistungsparameter. Tagungsband 4. BOKU-Symposium Tierernährung, Wien 27.10.2005, S. 221 – 227

Quigley J.D., Kost C.J., Wolfe T.A. (2002): Effects of spray-dried animal plasma in milk replacers or additives containing serum and oligosaccharides on growth and health of calves. J. Dairy Sci., 413 – 421

Schroedl W., Jaeckel L., Krueger M. (2003): C-reactive protein and antibacterial activity in blood plasma of colostrum-fed calves and effect of lactulose. J. Dairy Sci., 3313 – 3320

Autorenanschrift

Dr. Wolfgang Preißinger
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
Prof.- Dürrwaechter- Platz 3, D-85586 Poing-Grub
E-mail: wolfgang.preissinger@LfL.bayern.de

Morphologische Veränderungen des Darmgewebes bei unterschiedlicher Zufuhr an unlöslichen Ballaststoffen am Modell des Absetzferkels

Karl Schedle[1], Michael Pfaffl[2], Wilhelm Windisch[1]

[1]Universität für Bodenkultur Wien
[2]Technische Universität München

Einleitung

Zulagen an Ballaststoffen zu faserarmen Diäten bewirken verschiedenste Veränderungen im Gastrointestinaltrakt. Diese Effekte können sich positiv auf das Wohlbefinden von Mensch und Tier auswirken (Kastell et al. 1999, Montagne 2003).

Die chemisch heterogenen Ballaststoffe können grundsätzlich in eine lösliche und eine unlösliche Fraktion unterteilt werden. Beide sind von monogastrischen Dünndarmenzymen nicht spaltbar. Lösliche Ballaststoffe dienen als Hauptfermentationsquelle für die Dickdarmflora, unlösliche Ballaststoffe dagegen erhöhen Wasserhaltekapazität und Passagerate (Wenk 2001, Montagne et al. 2003).

Zu den praxisüblichen unlöslichen Faserquellen zählen insbesondere die Nebenprodukte der Verarbeitung von Getreide, wie z.B. die meisten Kleien, aber auch Stroh und Produkte aus Holz, wie z.B. die Lignozellulosen. Die physikalische Struktur und Nährstoffzusammensetzung dieser Ballaststoffträger unterliegt jedoch zumeist beträchtlichen Schwankungen. Dies gilt allerdings nicht für die stark ligninhältigen Pollen der chinesischen Gelbkiefer "Pinus massonniana", die im asiatischen Raum als ballaststoffreiches Nahrungsergänzungsmittel für den Menschen verwendet werden. Diese Pinienpollen sind in ihrer physikalischen und chemischen Zusammensetzung sehr homogen und eigenen sich somit als Modell für einen ligninreichen Ballaststoffträger. In der folgenden Studie sollte die Wirkung einer Zulage an Weizenkleie oder Pinienpollen als Repräsentanten für unlösliche Faserquellen mit niedrigem bzw. hohem Ligningehalt auf die Morphologie im Gastrointestinaltrakt untersucht werden.

Material und Methoden

Die Studie wurde mit 48 Absetzferkeln der Kreuzung Edelschwein x Pietrain an der landwirtschaftlichen Fachschule Hatzendorf (Stm.) durchgeführt. Die Tiere wurden mit etwa 8 kg Lebendmasse nach Wurf, Geschlecht und Körpergewicht in 12 Blöcke zu je 4 Tiere eingeteilt und innerhalb des Blocks einer von 4 Futtertypen zugeteilt:

1) Kontrolle: keine extra zugesetzte Faserquelle
2) Zusatz von 3,000 % Weizenkleie (=*Weizenkleie)*
3) Zusatz von 1,275 % Pinienpollen (= *Pollen niedrig*)
4) Zusatz von 2,550 % Pinienpollen (= *Pollen hoch*)

Der Zusatz in den beiden höher dosierten Fasergruppen wurde so gewählt, dass die Zulage an Ballaststoffen (TDF, total dietary fiber) jeweils gleich hoch war (+16 g TDF/kg Futter)

Für den Fütterungsversuch wurden zwei Basis-Futtermischungen mit praxisüblicher Zusammensetzung verwendet, ein Starterfutter für die ersten 7 Tage nach dem Absetzen und ein Aufzuchtfutter für die weitere Versuchsdauer. Die Basismischung des Starter- und Aufzuchtfutters bestand hauptsächlich aus Mais, Weizen und Sojaextraktionsschrot mit Energie und Proteingehalten von 15,4 MJ ME/kg und 21,5% XP bzw. 14,4 MJ ME/kg und 18,2% XP, sowie bedarfsdeckender Ergänzung an essentiellen Aminosäuren, Mineralstoffen und Vitaminen, jedoch ohne Zusatz an potentiell leistungsfördernden Substanzen (z.B. organische Säuren, hohe Kupfer- oder Zinkgehalte, Probiotika, Prebiotika). Die Zulage an den Faserquellen erfolgte durch Einmischung in die fertigen Basis-Rationen. Die 4 Futtermischungen des Starter- bzw. Aufzuchtfutters wurden ad libitum verabreicht.

Die Tiere wurden in 8 Boxen eines vollklimatisierten, strohlosen Ferkelaufzuchtstalls mit Teilspaltenboden und beheizter Liegefläche gehalten. Am Tag 36 und 37 des Fütterungsversuchs wurden die Tiere in der betriebseigenen Schlachtstätte geschlachtet, Gewebeproben von Jejeunum, Ileum, Colon und Lymphknoten entnommen, in einer physiologischen Kochsalzlösung gewaschen und in neutral gepufferten 10%igen Formalin für 24 Stunden zwischengelagert. Anschließend wurden die Proben in einem automatischen Einbettungssystem in Paraffin eingebettet.

Die eingebetteten Gewebeproben wurden auf 6µm geschnitten und mit Haematoxylin und Eosin nach Luna (1969) gefärbt. Die Gewebeschnitte wurden mit einem Durchlichtmikroskop und der AxioCam MRc (Zeiss, Göttingen, Deutschland) fotografiert. Die Auswertung wurde mit dem Programm Axio Vision 3.1 (Zeiss, Göttingen, Deutschland) vorgenommen. In jedem Gewebe wurde für jede Kategorie (Zottenlänge, -breite, -Fläche bzw. Kryptentiefe, -breite, -fläche) eine Dreifachmessung angefertigt. Für die statistischen Auswertungen wurde der Mittelwert aus den Triplikaten herangezogen. Abbildung 1 zeigt die Vermessungen im Detail. Zusätzlich wurde die Fläche der 6 größten Peyerschen Platten des Ileums sowie die 6 größten Lymphfollikel in den mesenteralen Lymphknoten vermessen. In den Lymphknoten wurde weiters die komplette Anzahl der Lymphfollikel ausgewertet. Weitere Informationen über Material und Methoden sind bei Schedle et al. (2007) beschrieben.

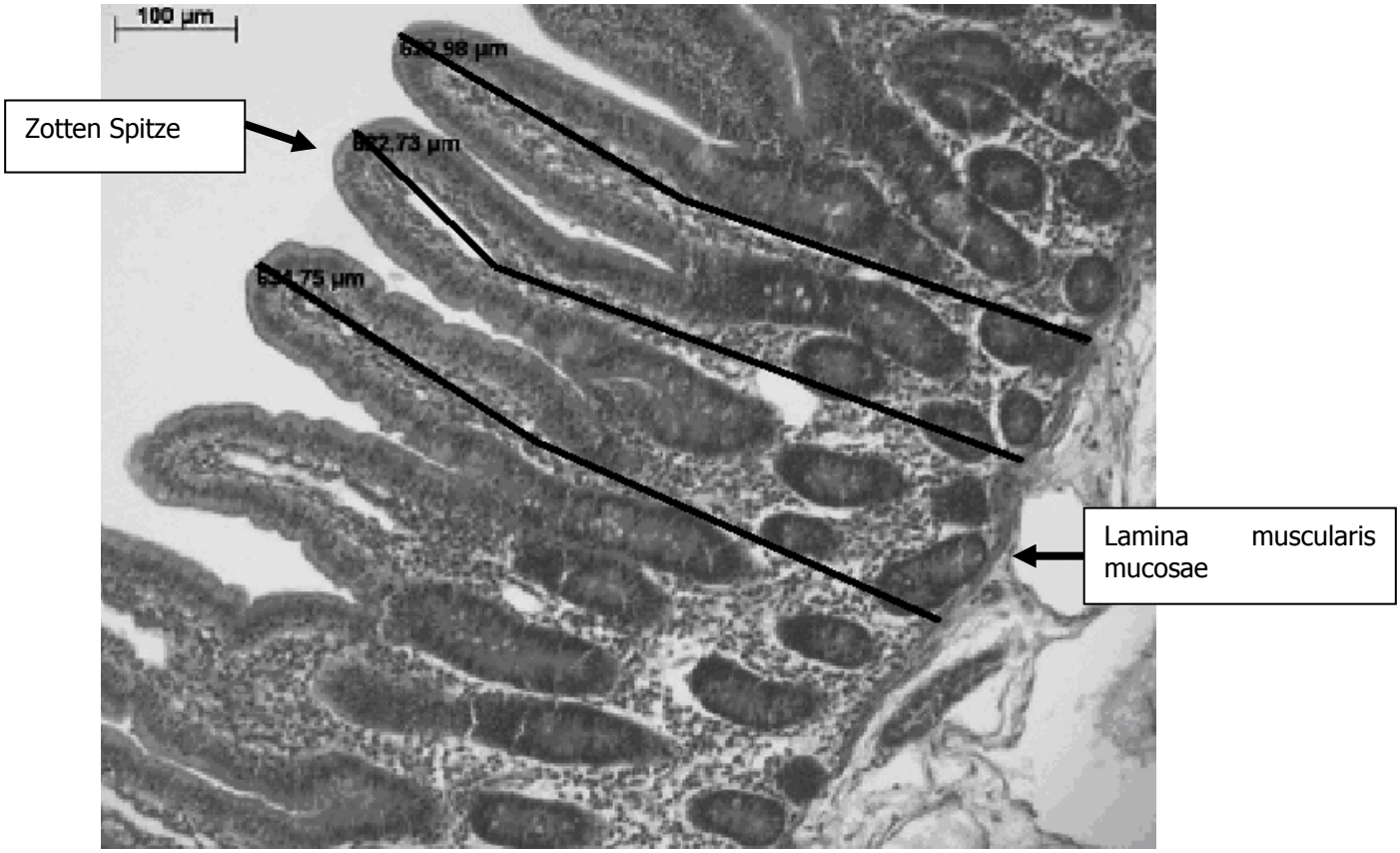


Abbildung 1: Messungen der morphologischen Parameter im Ileum (aus: Schedle et al. 2007).

Die Daten wurden einer Varianzanalyse (GLM-procedure of SAS, SAS Inst., Inc., Cary, NC) unterzogen. Signifikante unterschiede zwischen den Mittelwerten ($p \leq 0,05$; Student-Newman-Keuls-Test) werden mit Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse

Der Fütterungsversuch verlief über den ganzen Versuchszeitraum ohne nennenswerte Komplikationen. Es fielen insgesamt 3 Tiere ohne Bezug zur unterschiedlichen Fütterung aus (1 x Kontrolle, 2 x Pinienpollen).

Die gesammelten Gewebe waren durchwegs unverletzt und wiesen keine Zottenfusion oder –atrophie auf.

Ein Ballaststoffzusatz bewirkte im Jejunum eine Steigerung der Zottenlänge (*Weizenkleie* + 7%, *Pollen niedrig* +9%, *Pollen hoch* +14%). Weizenkleie (+10%) und *Pollen niedrig* (+7%) bewirkten eine Verbreiterung der Zotten, *Pollen hoch* dagegen verringerte die Breite. Folglich steigerte sich auch die Zottenoberfläche bei *Weizenkleie* und *Pollen niedrig* signifikant (Abbildung 2). Ein ähnlicher Trend war auch im Ileum festzustellen. Auch in diesem Dünndarmabschnitt konnte eine Ballaststoffsupplementation einen Anstieg der Zottenlänge bewirken (*Weizenkleie* +13%, *Pollen*

niedrig +19%, *Pollen hoch* +16%). *Weizenkleie* erhöhte in diesem Dünndarmabschnitt die Zottenbreite um 11%. Im Colon konnte eine numerische Vertiefung der Krypten beobachtet werden.

In den Peyerschen Platten des Ileums, sowie in den Lymphknoten, konnten keine Veränderungen der Lymphfollikel festgestellt werden. Die Anzahl der Lymphfollikel pro Lymphknoten konnte durch *Pollen hoch* signifikant gesenkt (-11%) werden.

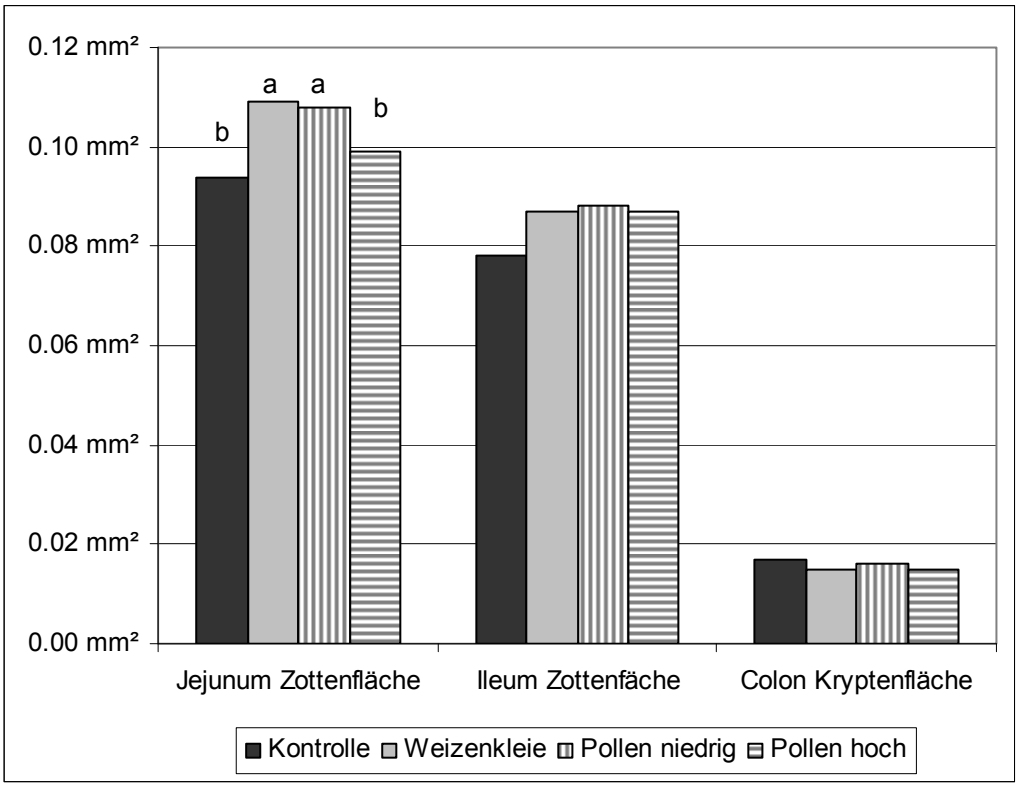


Abbildung 2: Ballaststoff bedingte Veränderung der Zotten- und Kryptenfläche im Gastrointestinaltrakt

Diskussion

In der vorliegenden Studie führte der Zusatz der beiden unlöslichen Ballaststoffquellen zum Ferkelfutter zu einem signifikanten Anstieg der Zottenlänge im Dünndarm. Diese Wirkung scheint auf unlösliche Ballaststoffe begrenzt zu sein, denn lösliche Ballaststoffe bewirken einen gegenteiligen Effekt, insbesondere wenn sie zur Gelbildung neigen (z.B. bei Pektinen) (McDonald et al. 2001).

Lange Darmzotten tragen zu einer höheren Resorptionsoberfläche bei und fördern dadurch die Fähigkeit des Darms zur Absorption von Nährstoffen. Zusätzlich steigern verlängerte Darmzotten das Potential der Sekretion von Verdauungsenzymen (Pluske et al. 1997). Beides erhöht die Kapazität des Verdauungstrakts zur Aufnahme und Prozessierung größerer Mengen an Futter und damit an Nährstoffen und Energie. Tatsächlich kam es in der vorliegenden Untersuchung durch die Zulage an unlöslichen Ballaststoffen zu einer signifikanten Steigerung der Futteraufnahme und des Gewichtszuwachses der Tiere (Ø +42 % bzw. Ø +23 %; Schedle et al. 2007).

Darmzotten reagieren sehr empfindlich auf immunologische Reize und reagieren bei Kontakt mit pathogenen Keimen oder Nahrungsallergenen prompt mit einer Verkürzung (Dreau et. al 1994). Die Zunahme der Zottenlänge und –fläche, sowie die morphologischen Ergebnisse aus den lymphatischen Organen im Gastrointestinaltrakt lassen deshalb die Aussage zu, dass es in der vorliegenden Studie bei den Tieren mit Zulage an unlöslichen Ballaststoffen eher zu einer immunologischen Entlastung des Verdauungstrakts kam (Fleige et al. 2007, Schedle et al. 2007). Unterstützt wird diese These durch das Ausbleiben einer Stimulation proinflammatorischer Gene im Gastrointestinaltrakt (Schedle et al. 2007).

Insgesamt wiesen beide Faserzusätze eine signifikante Wirkung auf die Darmmorphologie der behandelten Tiere auf. Dies steht in deutlichem Zusammenhang mit gesunden Tieren und einer Eubiose im Darm. Des weitern können sich längere Darmzotten und die damit bewirkte Oberflächenvergrößerung positiv auf die zootechnischen Parameter auswirken.

Literatur

Dreau D., Lalles J.P., Philouze-Rome V., Toullec R., Salmon H. (1994): Local and systemic immune responses to soybean protein ingestion in early –weaned pigs. Journal of Animal Science 72: 2090-2098.

Fleige S., Preißinger W., Meyer H.H.D., Pfaffl M.W. (2007): Effect of lactulose on growth performance and intestinal morphology of pre-ruminant calves using a milk replacer containing Enterococcus faecium. Animal 1: 367-373.

Kastell P., Zhao L., Zhu S., Harris P., Ferguson L.R. (1999): Studies on the mechanism of cancer protection by wheat bran: effects on the absorption, metabolism and excretion of the food carcinogen 2-amino-3methylimidazo[4,5f]quinoline (IQ). Carcinogenesis 20: 2253-2260.

Luna, L.G. (1969): Manual of Histological staining methods. 3rd Edn.: 77-83.

Mantoagne L., Pluske J.R., Hamson D.J. (2003): A review of ineractions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. Animal Feed Science and Technology 108: 95-117.

McDonald D.E., Pethick D.W., Mullan B.P. Hampson D.J. (2001): Increasing viscosity of the intestinal contents alters small intestinal structure and intestinal growth, and stimulates proliferation of enterotoxigenic Escherichia coli in newly-weaned pigs. British Journal of Nurition 86: 487-498.

Pluske J.R., Hampson D.J., Williams I.H. (1997): Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: A review. Livestock Produktion Science 51: 215-236.

Schedle K., Plitzner C., Zhao L., Domig K., Windisch W. (2007): Effects of different insoluble dietary fibers, on performance, digestibility, and gut microbiology in piglets. Archives of Animal Nutrition submitted.

Schedle K., Pfaff M.W., Plitzner C., Meyer H.H.D., Windisch W. (2007): The influence of different insoluble fiber sources on the morphology and mRNA expression of inflammatory and apoptotic markers in the gastrointestinal tract. Journal of Nutrition submitted.

Wenk C. (2001): The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. Animal Feed Science and Technology 90: 21-33.

Autorenanschrift

DI Karl Schedle
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Strasse 33, A-1180 Wien
e-Mail: karl.schedle@boku.ac.at

Auf der Hut vor der Hitze.

Mit unserem Enzym Belfeed® können Sie beim Pelletieren jetzt getrost einen kühlen Kopf bewahren. Dank seines bakteriellen Ursprungs ist es im Pelletierverfahren deutlich hitzebeständiger als herkömmliche Enzyme auf pilzlicher Basis. Dazu erreicht Belfeed® mit seinem breiten Wirkspektrum eine erheblich verbesserte Nährstoffverwertung. Profitieren Sie von Belfeed® und nehmen Sie Kontakt mit uns auf! Wir beraten Sie gerne.

DR. ECKEL
creative solutions

AGRI TECHNICA
Besuchen Sie uns auf der Agritechnica:
Hannover, 13.-17.11.2007
Halle 27, Stand G 31

DR. ECKEL GMBH, POSTFACH 20, 56649 NIEDERZISSEN
TELEFON +49-(0)-2636-9749-0, TELEFAX +49-(0)-2636-9749-9, WWW.DR-ECKEL.DE

Effekte unlöslicher Ballaststoffe auf mikrobiologische Parameter im Verdauungstrakt des Absetzferkels

S. Steindl[1], W. Windisch[1], K. Schedle[1]

[1]Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Ballaststoffen wird eine präventive Rolle im Verlauf verschiedener Krankheiten nachgesagt. Es wurde festgestellt, dass die Fermentation im Gastrointestinaltrakt eine wesentliche Bedeutung für die Gesundheit des Darms und die des Tieres hat (Williams et al. 2001). Neben löslichen Ballaststoffen, die vor allem die mikrobielle Fermentation im Dickdarm anregen, sind auch schwer fermentierbare Faserstoffe (=unlösliche Ballaststoffe) von Interesse. Vertreter der letztgenannten Fraktion sind zum Beispiel Weizenkleie (Vertreter mit hohem Zellulose- und niedrigen Ligningehalt) oder die Pollen der chinesischen Gelbkiefer (*pinus massoniana*) (Vertreter mit hohem Lignin- und Zellulosegehalt). Letztere werden seit langem in der traditionellen chinesischen Medizin zur Behandlung von Obstipation oder Diarrhoe eingesetzt. Seit dem EU-weiten Verbot der antibiotischen Leistungsförderer gewinnen die "sekundären Effekte" solcher Nahrungszusätze immer mehr an Bedeutung.

Ziel dieser Studie war es, die Wirkung zweier unlöslicher Ballaststoffquellen auf mikrobiologische Parameter des Verdauungstraktes am Tiermodell des Absetzferkels zu untersuchen. Um den Einfluss von Lignin bzw. Lignin-Zellulose-Komplex herauszuarbeiten, wurden die Pinienpollen in 2 verschiedenen Dosierungen eingesetzt. Im Vergleich zu diesen beiden Gruppen wurde die relativ ligninarme Weizenkleie, ein Vertreter für im Westen eingesetzte Ballaststoffquelle, als Positivkontrolle genutzt. Im Folgenden werden die Auswirkungen auf die Mikroorganismen des Verdauungstrakts und deren Fermentationsprodukte dargestellt (flüchtige Fettsäuren (short chain fatty acids, SCFA), Ammoniak, Laktat).

Material und Methoden

Die Studie wurde mit 48 Absetzferkeln der Kreuzung Edelschwein x Pietrain durchgeführt. Die Tiere wurden nach Wurf, Geschlecht und Lebensmasse (im Mittel 8,3 kg) in 12 Blöcke zu je 4 Tieren aufgeteilt und 4 Behandlungsgruppen zugewiesen. Die vier zugehörigen Futtermischungen unterschieden sich in der Zulage verschiedener Ballaststoffquellen und wurden *ad libitum* verabreicht. Die Zulage der Ballaststoffquellen wurde so gewählt, dass der Gesamtballaststoffgehalt (total dietary fiber, TDF) vergleichbar war (Tabelle 1).

Tabelle 1: Ballaststoffzulagen zu den Versuchsgruppen

	Kontrolle	*Weizenkleie*	*Pollen niedrig*	*Pollen hoch*
Zusatz an Weizenkleie [%]	-	3,0	-	-
Zusatz an Pinienpollen [%]	-	-	1,3	2,6
Zugelegte Menge an TDF [g/kg TM]	0	16	8	16

Es wurde ein praxisübliches Basisfutter mit bedarfsdeckenden Nährstoffgehalten eingesetzt (überwiegend Mais, Weizen, und Sojaschrot, sowie ein Mineralstoff- und Vitaminmix). Auf den Zusatz von potentiell leistungsfördernden Substanzen wurde verzichtet. In den ersten 7 Tagen wurde ein konzentrierteres Starterfutter (15,4 MJ ME/kg, 21,5% XP), für die weitere Versuchsdauer ein Aufzuchtfutter (14,4 MJ ME/kg, 18,2% XP) verwendet.

Die Ferkel wurden in 8 identen Boxen mit Spaltenboden, beheizter Liegefläche, Schalentränker und Fütterungsautomat eines klimatisierten Stalls gehalten. Am 36. bzw. 37. Tag wurden die Tiere mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 22,5 kg geschlachtet, um Chymusproben von Ileum und Colon zu erhalten. Die Proben wurden bis zur Analyse bei -80 °C unter anaeroben Bedingungen aufbewahrt.

Um die Keimgehalte (gesamte anaerobe Keimzahl, gramnegative anaerobe Keimzahl, Lactobacillus, Bifidobakterien, Clostridien, Gesamtkeimzahl, *E. coli*, Enterobacteriaceae) zu ermitteln, wurde je 1 g der Probe entsprechend verdünnt, auf einem geeigneten Selektivmedium aufgespatelt, kultiviert und die Kolonien ausgezählt. Die Analyse der flüchtigen Fettsäuren (Essig-, Propion-, Butter-, iso-Valerian- und n-Valerainsäure) erfolgte nach Extraktion von jeweils 1 g Probe in wässrigem Medium mittels Gaschromatographie (DANI EDUCATIONAL, Italien). Der Gehalt an Ammoniak und Laktat wurde mit Hilfe von Testkits (Boehringer Mannheim, Deutschland) bestimmt.

Ergebnisse

Der Versuch verlief ohne nennenswerte Probleme. Es fielen 3 Tiere aus (1 x *Kontrolle*, 2 x *Pollen hoch*), jedoch ohne Bezug zu den Fütterungsgruppen.

Die mikrobiologischen Untersuchungen zeigten keine signifikanten Unterschiede bei den diversen analysierten Bakterienarten, weder in den Chymusproben des Ileums (Abbildung 1), noch in jenen des Colons (Abbildung 2). Im Ileum jedoch wurden die Keimzahlen von *E. coli* und Enterobacteriaceae in allen Versuchsgruppen numerisch gesenkt. Die stärkste Reduktion erfolgte durch *Pollen hoch*, gefolgt von *Weizenkleie*.

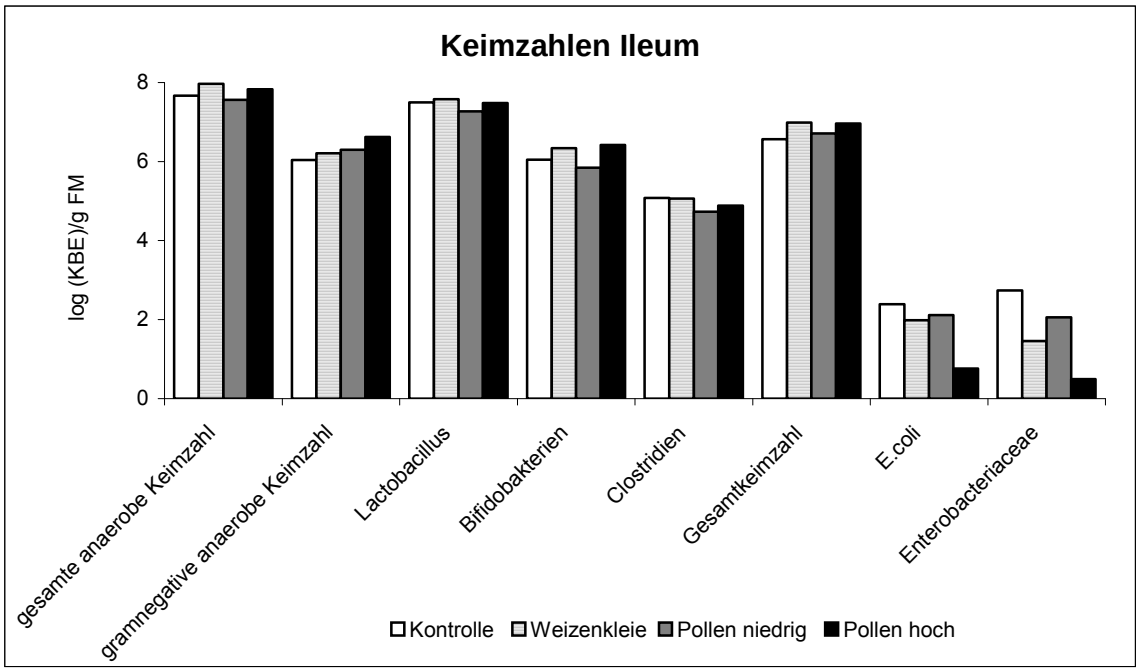


Abbildung 1: Auswirkungen der Ballaststoffsupplementationen auf die Keimzahlen im Ileum

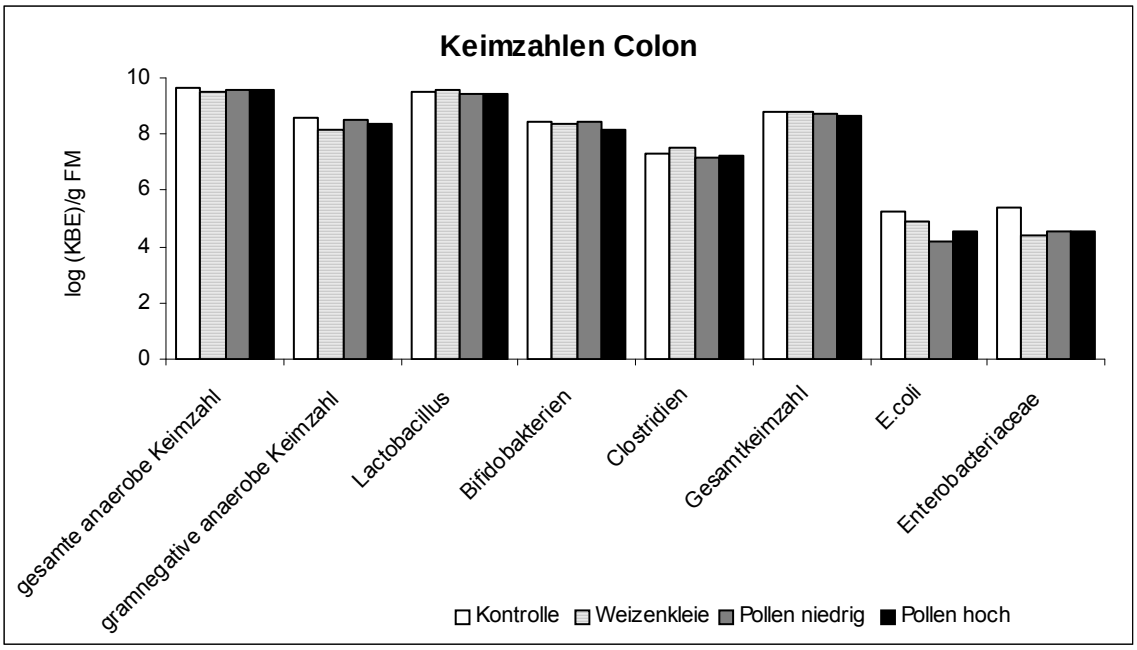


Abbildung 2: Auswirkungen der Ballaststoffsupplementationen auf die Keimzahlen im Colon

Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Analysen von Ammoniak, Laktat und der flüchtigen Fettsäuren. Die Ballaststoffzusätze bewirkten keine Veränderungen der flüchtigen Fettsäuren Essig-, Propion-, Butter-, iso-Valerian- und Valeriansäure im Gastrointestinaltrakt. Die Werte in den Versuchsgruppen unterschieden sich nur geringfügig von denen der Kontrollgruppe.

Der Ammoniakgehalt im Chymus des Ileums wurde durch die Ballaststoffzusätze um durchschnittlich 40 % numerisch erhöht. In den Colonproben reduzierte die Pollenzulage den Ammoniakgehalt im Vergleich zur Kontrollgruppe dosisabhänging um bis zu 38 % gegenüber der Kontrollgruppe.

Der Gehalt an Laktat wurde im Ileum kaum beeinflusst, hingegen ergaben sich im Colon signifikante Unterschiede. Sowohl die Zugabe von *Weizenkleie* (tendenziell), als auch der Zusatz von Pinienpollen (signifikant) senkten die Laktatkonzentration deutlich um bis zu 83 %.

Tabelle 2: Auswirkungen der verschiedenen Ballaststoffzusätze auf flüchtige Fettsäuren, sowie Ammoniak- und Laktatgehalt

	Kontrolle [mmol/kg FM]	s_x	*Weizenkleie*	*Pollen niedrig*	*Pollen hoch*
			Prozentuelle Änderung		
Ileum					
Essigsäure	13,66	5,6	-12	-18	+2
Propionsäure	<0,01	0,0	†	†	†
Buttersäure	0,26	0,6	†	†	†
i-Valeriansäure	<0,01	0,0	†	†	†
n-Valeriainsäure	0,08	0,2	†	†	†
Ammoniak	2,91	2,2	+41	+28	+52
Laktat	22,59	14,3	+10	-12	+14
Colon					
Essigsäure	75,94	14,2	0	-7	-9
Propionsäure	41,23	13,8	+9	+11	+4
Buttersäure	19,05	8,2	-3	+1	-3
i-Valeriansäure	1,64	1,7	+25	-44	-25
n-Valeriainsäure	3,80	3,4	-3	+5	-3
Ammoniak	15.70	9,2	-10	-31 *	-38 *
Laktat	7,14	11,1	-55 (*)	-70 *	-83 *

*= Linearer Kontrast der Mittelwerte gegenüber der Kontrolle ($p<0.05$)
(*)= Linearer Kontrast der Mittelwerte gegenüber der Kontrolle ($p<0.1$)
† = keine statistische Auswertung, da zu kleiner Wert

Diskussion

Die unlöslichen Ballaststoffe beeinflussten die Keimzahlen der Bakterienarten im Colon nur wenig, im Ileum hingegen wurden *E. coli* und Enterobacteriaceae numerisch gesenkt. Die Reduktion war umso stärker ausgeprägt, je mehr Zellulose-Lignin-Komplex über die Zusätze in das Futter eingetragen wurde. Die entsprechende Korrelation war statistisch signifikant (r = -0,89, Schedle et al. 2007). Ähnliches wurde auch von Zhao et al. (1996) beschrieben. Die Hemmung dieser Bakterien im Ileum sollte sich positiv auf die Darmgesundheit auswirken. Der Wirkungsmechanismus unterscheidet sich jedoch offensichtlich von dem der Prebiotika, denn Pinienpollen und Weizenkleie sind weitgehend unlösliche Ballaststoffe und liefern demnach kaum Fermentationssubstrate für erwünschte Mikroorganismen.

Flüchtige Fettsäuren stammen aus den Stoffwechselprodukten der Dickdarmflora und sind Engerielieferanten für den Organismus. SCFA stimulieren den colonischen Blutfluss und die Aufnahme von Elektrolyten, dabei ist Butyrat ein bevorzugtes Substrat für die Colonozyten (Topping und Clifton 2001). Aufgrund der geringen Fermentierbarkeit von unlöslichen Ballaststoffen waren in der vorliegenden Studie keine Effekte auf das Fettsäuremuster im Ileum und Colon erwarten. Auch in anderen Studien zeigte sich, dass unlösliche Ballaststoffe das Fettsäurenmuster nicht beeinflussen (Caneiro et al. 2006, van Nevel et al. 2006).

Vor dem Hintergrund einer weitgehend unveränderten Zusammensetzung der Mikroflora und des Musters der von ihr erzeugten flüchtigen Fettsäuren sind die Verschiebungen der Gehalte an Ammoniak und Laktat im Verdauungstrakt besonders interessant. Die numerische Erhöhung des Ammoniaks im Ileum könnte beispielsweise von erhöhten endogenen Sekretionen in den Dünndarm und deren mikrobiellen Abbau stammen. Eine Abnahme des Ammoniakgehalts im Colon wird in der Literatur in der Regel mit einem verstärkten Einbau von Stickstoff in Mikrobenprotein erklärt, was wiederum auf ein vermehrtes Mikrobenwachstum infolge eines erhöhten Angebots an fermentierbarer Energie zurückzuführen ist. In der vorliegenden Studie wurden jedoch unlösliche – d.h. mikrobiell kaum fermentierbare – Ballaststoffe zugelegt. Darüber hinaus haben Studien gezeigt, dass Pinienpollen praktisch unverdaulich sind (Zhao et al. 1996, Zhao et al. 2007). Die Abnahme des Ammoniakgehalts im Colon deutet demnach darauf hin, dass die zugelegten Träger an unlöslichen Ballaststoffen bzw. eine ihrer Unterkomponenten (Lignin und/oder Lignin-Zellulose-Komplex) NH_3-bindende Strukturen aufweisen und/oder die Fermentationsvorgänge modifizieren, indem sie beispielsweise Besiedelungsoberflächen für Mikroorganismen bereitstellen und die Passagerate des Coloninhalts verlangsamen. Letzteres würde selbst bei den schwer fermentierbaren Kohlenhydraten das Ausmaß des mikrobiellen Abbaus erhöhen und könnte möglicherweise auch den Rückgang des Laktatgehalts erklären.

Insgesamt hatten die unlöslichen Ballaststoffe, insbesondere wenn sie reich an Zellulose und/oder Lignin waren, mehrere positive Effekte auf den Verdauungstrakt. Es zeigte sich eine vom Zellulose-Lignin-Komplex abhängige Reduktion der Koloniezahlen an den potentiell pathogenen Keimen *E. coli* und Enterobacteriaceae im Ileum. Die Reduzierung des Ammoniaks im Colon wies auf ein weniger toxisches Milieu hin. Diese Befunde zeigen, dass Zulagen an unlöslichen Ballaststoffen zum Ferkelfutter durchaus einen positiven Beitrag zur kritischen Phase des Absetzens leisten können.

Literatur

Carneiro M. S. C., Lordelo M. M., Cunha L. F., Freire J. P. B.: Microbial Activity in the Gut of Piglets. Effects of Prebiotic and Probiotic Supplementation. 10th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs, May 2006, Denmark

Schedle K., Plitzner C., Zhao L., Domig K.J., Windisch W. (2007): Effects of insoluble dietary fiber differing in cellulose and lignin on performance, gut microbiology, and digestibility in weanling piglets. Archives of Animal Nutrition submitted

Topping D. L., Clifton P. M. (2001): Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Functions: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides. Physiological Reviews Vol. 81, No. 3: 1031-1064

Van Nevel C. J., Dierick N. A., Decuypere J. A., De Smet S. M. (2006): *In vitro* fermentability and physicochemical properties of fibre substrates and their effect on bacteriological and morphological characteristics of gastrointestinal tract of newly weaned piglets. Archives of Animal Nutrition 60(6): 477-500

Williams B. A., Verstegen M. W. A., Tamminga S. (2001): Fermentation in large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. Nutrition Research Reviews 14: 207-227

Zhao L., Windisch W., Kirchgeßner M. (1996): A study on the nutritive value of pollen from the Chinese Masson Pine (Pinus massoniana) and its effect on fecal characteristics in rats. Z Ernährungswiss 35: 341-347

Zhao L., Windisch W., Roth FX., Eder K., Ettle T. (2007): Nutritive value of Masson Pine pollen in comparison to wheat bran and effects on stool characteristics in a pig model. Austrian J Argic Res accepted

Autorenanschrift

Sandra Steindl
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Strasse 33, A-1180 Wien
Email: sandra.steindl@boku.ac.at

Einfluss von VITACEL® Rohfaserkonzentrat auf zootechnische Parameter, den Gesundheitszustand und die Entwicklung des Gastrointestinaltraktes beim Kalb

G. Dusel[1], J.Trautwein[1] und Armin Vikari[2]

[1] Fachhochschule Bingen, Fachbereich 1 - Life Sciences – Agrarwirtschaft
[2] J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co. KG

Einleitung

Für eine rentable Kälberaufzucht spielen der Gesundheitszustand sowie eine frühzeitige Entwicklung des Kalbes zum Wiederkäuer eine herausragende Rolle. Vor allem fütterungs- und infektionsbedingte Darmstörungen und daraus resultierende Durchfallerkrankungen bringen meist große Leistungseinbußen mit sich und führen nicht selten zu Kälberverlusten. Eine möglichst schnelle Pansenentwicklung und somit die Fähigkeit des Gastrointestinaltraktes des Kalbes Grob- und Kraftfutter zu fermentieren begünstigt gute Ergebnisse in den Leistungsparametern und trägt somit zur Wirtschaftlichkeit der Kälberaufzucht bei. Dies ist die Basis für die spätere Milch- und Mastleistung von Rindern. Hinsichtlich dieser Aspekte sollte in folgendem Versuch ein spezieller Rohfaserträger, in Form des Produktes VITACEL® der Firma J. RETTENMAIER & SÖHNE GmbH & Co KG auf seine Praxistauglichkeit in der Kälberaufzucht überprüft werden. Die hochreinen und fibrillierten Cellulosefasern bilden im Verdauungstrakt der Tiere ein Fasernetzwerk aus, wodurch sich der Nahrungsbrei lockert und besser von Verdauungsenzymen und Mikroorganismen durchdrungen werden kann. Dies begünstigt eine bessere Verwertung der Futterinhaltsstoffe im Nahrungsbrei. Positive Effekte des Rohfaserkonzentrates auf Darmzottenwachstum und die Darmtätigkeit wurden bereits in früheren Praxisversuchen beim Ferkel beschrieben (Sterr, 2002).

Zwar Wiederkäuer von Hause aus, hat das Kalb von Geburt die gleichen Nährstoffansprüche wie ein Monogastrier, so dass auch eine bessere Darmgesundheit bei Kälbern durch den Einsatz des Rohfaserkonzentrates vermutet wird. In diesem Zusammenhang sollte in vorliegender Studie der Einfluss von VITACEL® im Vergleich zu einer Kontrollgruppe auf ausgewählte Leistungsparameter, Pansenentwicklung sowie Gesundheitsstatus beim Kalb untersucht werden.

Material und Methoden

Die Studie wurde mit 40 Kälbern der Rasse Fleckvieh durchgeführt. Die Versuchsanstellung erfolgte an der Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung Hofgut Neumühle in Münchweiler. Die beiden Tiergruppen zu je 20 Tieren wurden mit einem durchschnittlichen Einstallgewicht von 61,8 kg (Versuchsgruppe) bzw. 61,3 kg (Kontrollgruppe) und einem Durchschnittsalter von 22 Tagen einem wechselseitig zu belegenden Aussenklimastall zugeteilt:

A Kontrolle ohne Faserzusatz zur MAT-Tränke

B Zusatz von 10 g VITACEL® R 200 C Superfine / l MAT-Tränke (1 %)

Die Tiere wurden zur Einstallung, bei der Gruppeneinteilung und dann wöchentlich gewogen. Die Futteraufnahme von Milchaustauscher (MAT) und Kraftfutter (KF) wurde täglich je Tier erfasst. Die Maissilage-Aufnahme der Versuchsgruppe wurde über tägliche Einwaage und Rückwaage der Futterreste bestimmt. Der Heuverzehr wurde in Summe über die gesamte Versuchsdauer je Gruppe erfasst. Die gesamte Versuchsdauer betrug 17 Wochen (Feb – Juni 2007). In der 10. Versuchswoche wurden je 3 Tiere aus beiden Gruppen geschlachtet und der Pansen entnommen.

Für den Fütterungsversuch diente ein kommerzieller Milchaustauscher (0-MAT, 21,0 % XP) als Milchersatztränke. Zum MAT der Versuchsgruppe wurde pro Liter Tränke 10g Vitacel® R 200 C SUPER FINE über den Medikamentendosierer der Tränkestation zugesetzt. Insgesamt wurde 80 Tage lang getränkt, wobei das tägliche Milchanrecht pro Tier ab dem 47. Tag auf 4 Liter abgesenkt wurde. Die Tränketemperatur betrug 38-40°C.

Ab dem dritten Tag nach der Einstallung erhielten die Kälber freien Zugang zum Kraftfutterautomaten. Die tierindividuelle Kraftfutterzuteilung wurde über den Automaten gesteuert. Die Höchstmenge pro Tag wurde kontinuierlich gesteigert und auf max. 2,5 kg eingestellt. Bei dem eingesetzten Kraftfutter handelt es sich um eine Eigenmischung der Versuchsanstalt Neumühle basierend auf den Empfehlungen der Riswicker Mischung mit einem Energie- und Proteingehalt von 13,17 MJ ME/kg TM und 16,5 % XP. Ab der zweiten Versuchswoche erhielten die Kälber täglich frische Maissilage ad libitum (10,01 MJ ME/kg TM; 9,0 %XP). Die Verzehrsmenge wurde täglich pro Gruppe erfasst. Heu stand jeweils beiden Gruppen über die Heuraufen zur freien Verfügung.

Proben der Kraftfuttermischung, Maissilage und Heu wurden auf Rohnährstoffe analysiert (LUFA Speyer) und dienten zur Ermittlung der Metabolischen Energiegehalte der Futtermittel, errechnet nach Formel der GfE 1995 in der DLG Futterwerttabelle (1997). Zur Beurteilung der Pansenentwicklung wurden in der 10. Versuchswoche bei einer Lebendmasse von etwa 100 kg je drei Kälber pro Gruppe geschlachtet und der Pansen sowie Dünndarm (Duodenum) entnommen. Anschließend wurden die Parameter Pansengewicht, Pansenvolumen, Pansenzottenlänge, Pansenzottenzahl und Pansenwanddicke erfasst. Zudem wurde die Farbe subjektiv erfasst und die Pansen auf Veränderungen überprüft.

Die Festlegung der Pansenregionen erfolgte in Anlehnung an die Arbeiten von LESMEISTER et al. (2004). Aus jedem Bereich wurden pro Pansen drei repräsentative Stücke zur Auswertung entnommen. Zur Ermittlung des Pansenvolumens wurde die eingefüllte Wassermenge gemessen. Zottenlänge und Pansenwanddicke wurden mittels Schieblehre bestimmt. Die Zotten pro cm^2 wurden unter dem Binoccular ausgezählt.

In den ersten 14 Versuchstagen wurde die Körpertemperaturen der Kälber 2 x täglich kontrolliert und bei Bedarf prophylaktische Maßnahmen eingeleitet. Kranke Tiere wurden dem verantwortlichen Tierarzt vorgestellt, der ggf. notwendige Behandlungen einleitete. Zudem wurde Durchfallhäufigkeit in beiden Gruppen erfasst und erkrankte Tiere ggf. behandelt.

Die erfassten Daten wurden mit Hilfe des Programmpaketes MS Office Excel 2004 verrechnet und Signifikanzen durch T-Test ($\alpha<0,05$) bestimmt.

Ergebnisse

Im gesamten Versuchsverlauf traten keine nennenswerten Komplikationen auf. In Versuchswoche 4 verendete ein Kalb aus der Versuchsgruppe ohne gravierende Krankheitsanzeichen gezeigt zu haben.

Die Aufnahme des Milchaustauschers (MAT) und die Kraftfutteraufnahme war bei beiden Gruppen als identisch zu bezeichnen. Über die gesamte Versuchsdauer lag der Silageverzehr der Versuchsgruppe mit 60 kg TS deutlich über der Kontrollgruppe mit 35 kg TS. Die Heuaufnahme war in beiden Gruppen identisch und lag im Durchschnitt beider Gruppen bei 280g pro Tier/Tag. Der höhere Silageverzehr spiegelte sich in der Trockenmasseaufnahme aus Kraftfutter und Maissilage sowie Energieaufnahme wieder (Abb. 1), wobei eine Energiemehraufnahme von 2,8 MJ ME pro Tier/Tag der Versuchskälber im Mittel der Versuchsperiode zu verzeichnen war.

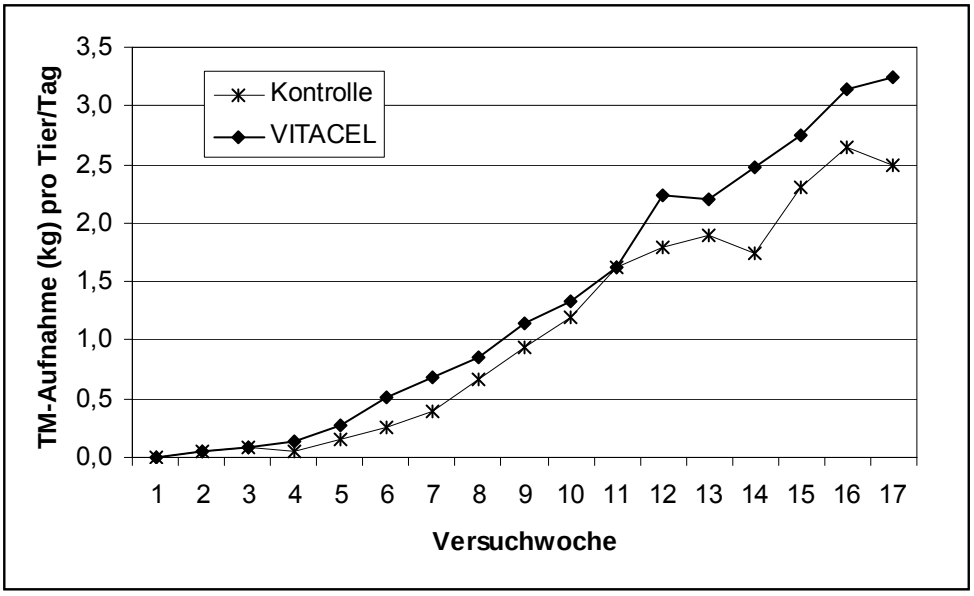


Abbildung 1: Trockenmasse (TS)-Aufnahme aus Kraftfutter und Maissilage beider Gruppen (in kg TM pro Tier/Tag im Wochenmittel)

Wie Abb. 2 zeigt, lagen in den ersten neun Versuchwochen die Tageszunahmen in beiden Gruppen mit 471 g (Kontrolle) bzw. 480 g (Versuch) auf nahezu gleichem Niveau. Anschließend zeigte sich bis zum Versuchsende eine Verbesserung der Zunahmen der Versuchsgruppen um 78 g je Tier/Tag gegenüber der Kontrollgruppe. Die Lebendmassezunahme der VITACEL®-Kälber lag bei 103,2 kg LM gegenüber 99,8 kg der Kontrolle und erreichte eine durchschnittliche Mehrzunahme von 3,4 kg.

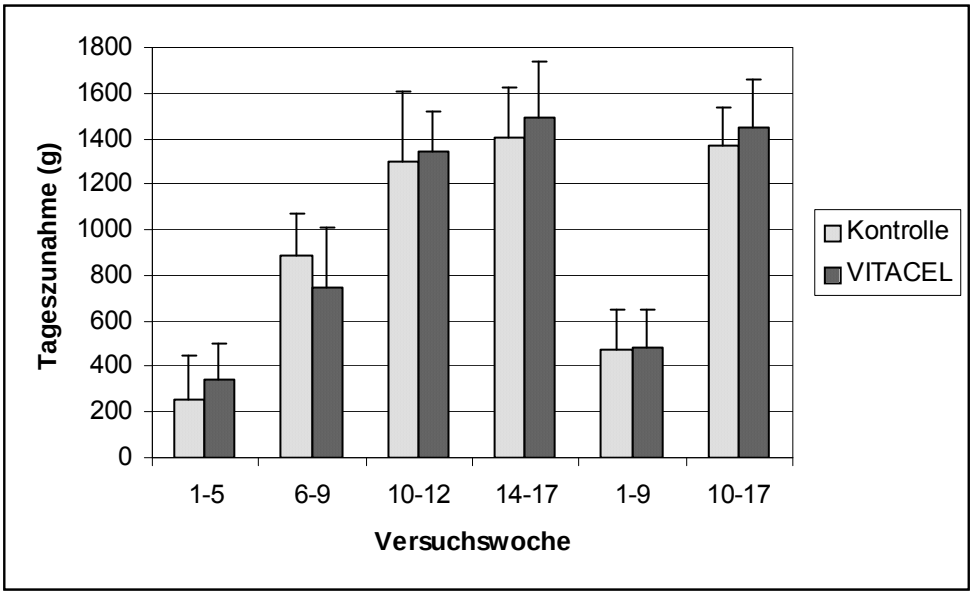


Abbildung 2: Entwicklung der Tageszunahmen (g) im Gruppenvergleich über den Versuchszeitraum

In den untersuchten Segmenten des Pansen (Abb. 3) zeigte sich ein deutlicher Farbunterschied zwischen den Behandlungsgruppen, wobei die Pansen der Versuchstiere eine deutlich dunklere Färbung aufwiesen. Hinsichtlich Pansengewicht und Pansenvolumen waren keine Unterschiede erkennbar. Wie aus Abbildung 4, 5 und 6 hervorgeht, konnten dagegen hinsichtlich den Parameter Pansenwanddicke-, Zottenhöhe – und Zottenanzahl teilweise signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden, wobei eine systematisch bessere Pansenentwicklung bei den VITACEL®-Kälber zu erkennen war. In 5 verschiedenen Pansensegmenten war bei VITACEL®-Supplementierung die Pansenwand um durchschnittlich 21 % dicker entwickelt als in der Kontrollgruppe (Abb. 4). Wie Abbildung 5 zeigt, lag in den untersuchten 4 Pansenregionen die Zottenhöhe in der Versuchsgruppe durchschnittlich um 9,4 % (0,93 cm) über der Zottenlänge der Kontrolltiere (0,85 cm). Die Zulage von VITACEL® führte zu einer Erhöhung der Zottenanzahl um durchschnittlich 16,8 % gegenüber dem Kontrollniveau, wobei im Durchschnitt 43 mehr Zotten pro cm^2 bei den VITACEL®-Kälbern zu erkennen waren (Abb. 6). Diese Differenzen waren teilweise statistisch absicherbar ($p < 0.05$).

Abbildung 3: Ausgewählte Pansenparameter

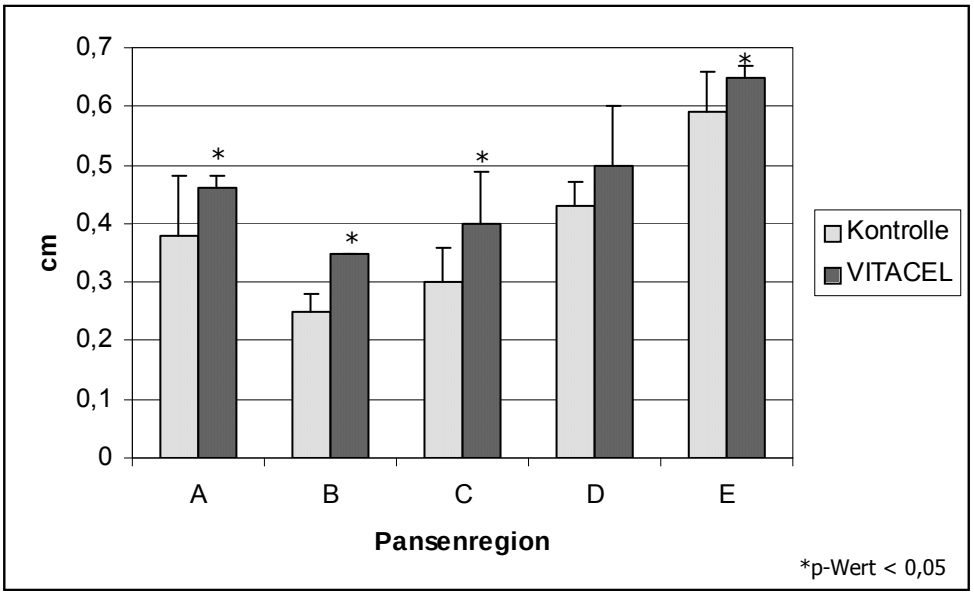


Abbildung 4: Pansenwanddicke im Vergleich beider Gruppen (cm)

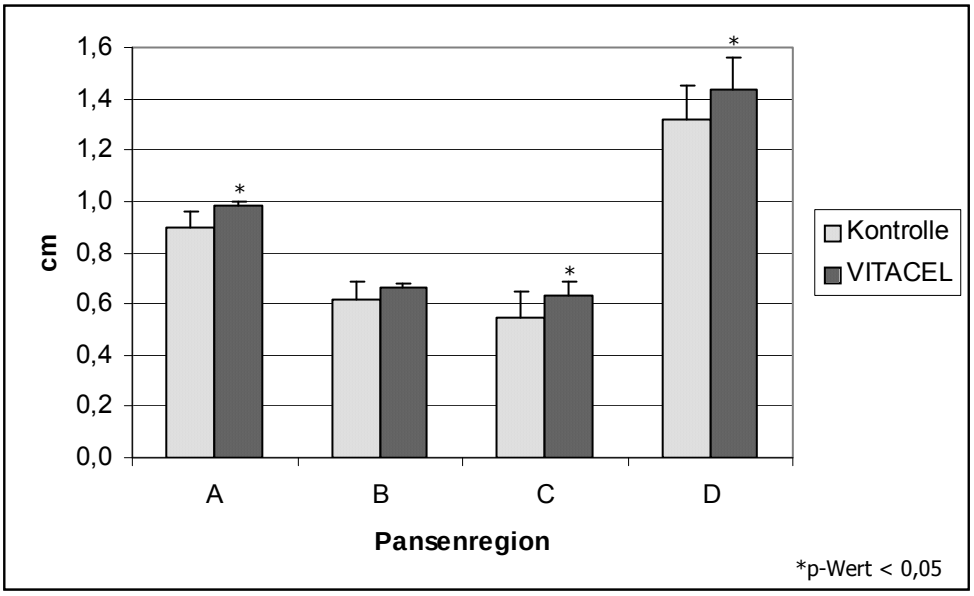


Abbildung 5: Pansenzottenhöhe im Vergleich beider Gruppen (cm)

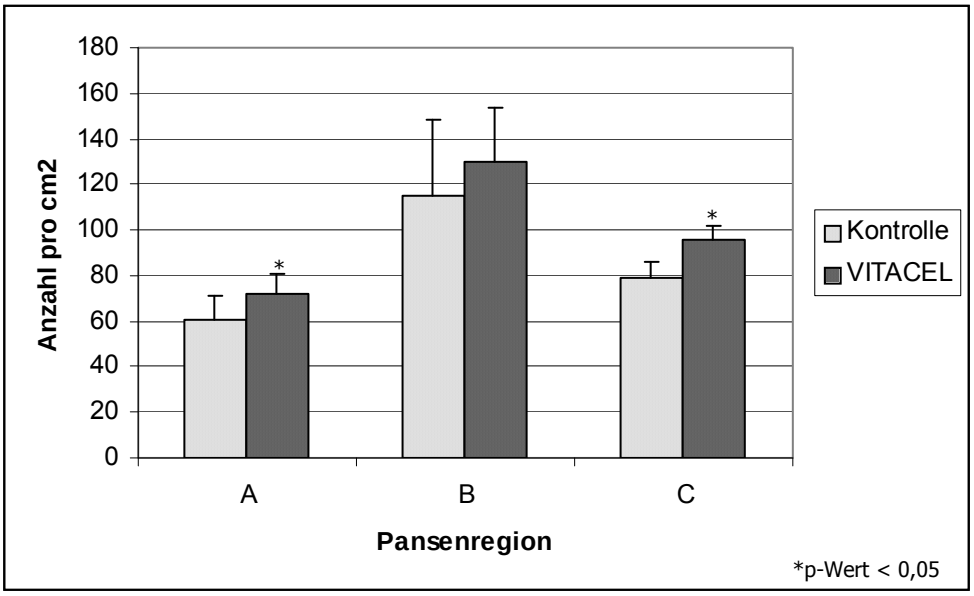


Abbildung 6: Pansenzottenanzahl im Vergleich beider Gruppen (n / cm^2)

Bis Versuchswoche 5 traten in beiden Behandlungsgruppen vergleichbare gesundheitliche Probleme auf, die überwiegend aus Darmerkrankungen wie Durchfall und teilweise Atemwegserkrankungen bestanden. In Woche 5 und 6 folgte ein Schub von Rindergrippe vermehrt in der Kontrollgruppe, wohingegen die Versuchsgruppe nur in geringem Umfang befallen war. Nach diesem Abschnitt zeigten die Kälber in der Versuchsgruppe einen stabileren Gesundheitsstatus und weniger Krankheitsan-

fälligkeit als die Kontrolltiere. Aufgrund dessen ergab sich insgesamt durch den Einsatz von VITACEL eine Reduktion der Behandlungs- und Medizinalkosten von Euro 8,70 je Kalb (Abb. 7)

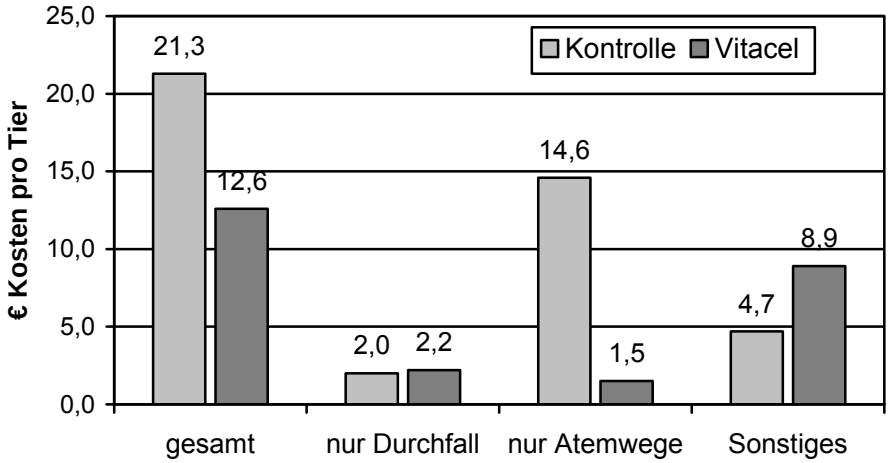


Abbildung 7: Behandlungs- und Medikamentenkosten je Tier im Versuchszeitraum (€ / Kalb)

Diskussion

In einem 17-wöchigen Praxisversuch wurde der Einsatz eines speziellen Rohfaserträgers in Form des Produktes VITACEL R 200 C Super Fine auf Leistungsparameter, Pansenentwicklung und den Gesundheitszustand von Kälbern untersucht. In vorliegender Studie führte dabei der VITACEL®-Zusatz zur Milchaustauschertränke über 80 Tage zu einer Verbesserung der Tageszunahmen. Die Mehrzunahme an Lebendmasse von 3,4 kg in der Versuchgruppe bei Versuchsende im Vergleich zur Kontrolle könnten durch die erhöhte Futteraufnahme und den stabileren Gesundheitsstatus der Kälber erklärt werden. Wenngleich sich keine Unterschiede in der MAT, Kraftfutter- und Heuaufnahme feststellen ließen, zeigten sich dagegen sehr deutliche Differenzen bei der Silageaufnahme, wobei die Kälber der Versuchgruppe deutlich schneller größere Mengen an Maissilage aufnahmen. Die höhere Maissilageaufnahme spiegelte sich dabei in der höheren Trockenmasse – und Energieaufnahme wieder. Im Mittel über die Versuchsperiode wurde von den Kälbern der Versuchsgruppe 2,8 MJ ME pro Tier und Tag mehr aufgenommen gegenüber den Kontrolltieren, wobei die VITACEL®-Kälber 1,4 MJ ME pro kg Lebendmassezuwachs mehr benötigten. Sicherlich spielt dabei vor allem die hohe Silageaufnahme der Versuchsgruppe eine große Rolle, da insbesondere zu Beginn des Versuches die Pansenentwicklung altersbedingt noch nicht so weit fortgeschritten war, dass die Kälber das Energiepotenzial des Grobfutters voll ausnutzen konnten.

Der Gesundheitsstatus war in den ersten vier Versuchswochen als annähernd identisch zu bezeichnen. und es traten in beiden Gruppen etwa gleich viele gesundheitliche Probleme auf, die überwiegend aus Darmerkrankungen (Durchfall) aber auch Atemwegserkrankungen bestanden. In der fünften und sechsten Versuchswoche folgte ein Schub mit Rindergrippe, wobei in dieser Zeit vermehrt die Kontrollgruppe betroffen war. Die Kälber der Versuchsgruppe wiesen dabei einen stabileren Gesundheitsstatus auf da sie weniger von Atemwegserkrankungen in der 5.-7. Versuchwoche betroffen waren als die Kontrollkälber. Ab diesem Versuchsabschnitt schienen die Kälber der

Versuchsgruppe gegenüber der Kontrolle einen besseren bzw. stabileren Gesundheitsstatus zu besitzen, der sich in einer geringeren Krankheitsanfälligkeit zeigte. Dieser Befund bestätigt Ergebnisse eine früheren Kälberstudie, bei dem mit VITACEL® versorgte Kälber den Ausbruch von BRSV (Bovines respiratorisches Synzitialvirus) besser verkraftet haben und dadurch die Kälber schneller wieder zu normaler Futteraufnahme zurückgekehrt sind sowie zootechnische Parameter insgesamt verbessert wurden (Vikari und Gerighausen, 2007).

Teilweise signifikante Verbesserungen der VITACEL®-Kälber gegenüber der Kontrolle zeigten sich bei der Auswertung der Pansenparameter. Je nach Pansenregion wiesen die Pansen der Versuchskälber längere Zotten, eine höhere Zottenanzahl und eine dickere Pansenwand auf, die auf eine schnellere Pansenentwicklung hinweisen können. Die dunklere Färbung in der Versuchsgruppe weist auf einen gesunderen Pansen hin, wobei die Ursache der unterschiedlichen Pansenfärbung noch zu klären ist.

Möglicherweise tragen zu den positiven Wirkungen von VITACEL® auf Leistungsbereitschaft und Krankheitsresistenz potentiell immunstimulierende Effekte des Rohfaserkonzentrates bei. Aktuelle Studien bestätigen eine positive Wirkung schwerverdaulicher Faserzusätze auf Darmgesundheit und das Immunsystem bei Absetzferkel Eine Zulage von hochreinen schwerverdaulichen Faserkomponenten mit hohem Celluloseanteil bewirkte hierbei eine generelle Erhöhung der Abwehrbereitschaft der Tiere, was das Risiko des Ausbruchs einer Infektionskrankheit senken und insgesamt die Leistungsbereitschaft verbessern kann (Schedle et al. 2007). Möglicherweise haben in vorliegender Kälberstudie derartige immunmodulierende Effekte neben der besseren Pansenzotten-entwicklung zur Steigerung der Aufzuchtleistung und dem besseren Gesundheitsstatus beigetragen. Dies spiegelt sich auch in niedrigeren Behandlungskosten der Tiere der Versuchsgruppe gegenüber der Kontrolle wieder.

Insgesamt zeigte die VITACEL®-Supplementierung eine positive Wirkung auf die zootechnischen Parameter, den Gesundheitsstatus und insbesondere die Pansenentwicklung beim Kalb. Im Vergleich zum Pansen der Kontrollgruppe war der Pansen der VITACEL®-Kälber besser ausgebildet. Es waren mehr Zotten vorhanden, die Pansenzotten waren länger und dichter. Mit einer gezielten Zufütterung von VITACEL® in der Tränkephase scheint generell die Pansenentwicklung des Kalbes und damit die gesunde Entwicklung zum Wiederkäuer gefördert und beschleunigt zu werden.

Literatur

DLG (1997): DLG-Futterwerttabelle – Wiederkäuer. DLG-Verlag, Frankfurt.

Lesmeister K.E., P.R. Tozer and A.J. Heinrichs (2004): Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. J. Dairy Sci. 87:1336-1344

Schedle, K., Pfaffl, M., Windisch. W. (2006): Modellversuch an Absetzferkeln zur Wirkung von Rohfaser auf zootechnische Leistungen und die Expression des inflammatorischen Markergens TNFa im Gastrointestinaltrakt. In: Ettle, T., Kraft, M., Windisch, W. (Hrsg.), 5. BOKU-Symposium Tierernährung Qualitätsmindernde Futterinhaltsstoffe: Bedeutung - Vermeidung - Kontrolle, 02. November 2006, BOKU, Wien, 164-168, ISBN: 978-3-900962-66-1.

Sterr, S (2002): Erfolgreiche Ferkelaufzucht mit Fasern aus der Natur. VeredlungsProduktion 2/2002, 29-30.

Vikari, A. und Gerighausen, H.-G. (2007): Faserwirkung beim Kalb. Nutztierpraxis Ausgabe 21, Juni 2007, 18-22.

Autorenanschrift

Prof. Dr. Georg Dusel
Fachhochschule Bingen
University of Applied Science
Fachbereich 1 – Life Sciences and Engineering
Berlinstrasse 109, D- 55411 Bingen, Germany
Email: dusel@fh-bingen

Das Rohfaserkonzentrat für die Jungtierfütterung
ARBOCEL® RFC
Gute Verdauung Garantiert
VITACEL® RFC
VITACEL®
Darmzotten-Management
Durchfall-Prävention
Längere Darmzotten
Höhere Zunahmen
Besserer Immunstatus
Weniger Durchfall
J. RETTENMAIER & SÖHNE GMBH+CO.KG
JRS
Fasern aus der Natur
gesund, wirtschaftlich, natürlich
Info-Hot-Line: ++49 (0)7967/152-520
www.rohfaserkonzentrat.de

The effect of Mannan oligosaccharide in starter feed on technical performance on a high performing broiler flock

L. Nollet[1], L. De Lange[2], A. Kocher[3], W. Beeks[1]

[1] Alltech Netherlands BV, The Netherlands
[2] De Heus Feeds, The Netherlands
[3] Alltech Biotechnology Centre, Ireland

Introduction

Saccharomyces cerevisiae yeast outer cell wall component, mannan oligosaccharide (MOS), was introduced as a feed supplement for broiler chickens in 1993. Since then MOS has been shown in many trials to improve body weight, feed conversion ratio and livability. One particular advantage of MOS is its stability during steam pelleting which allows it to be added in the mixer prior to pelleting or crumbling of broiler diets (Hooge, 2004).

At least 3 main modes of action has been reported

1. Adsorption of pathogenic bacteria containing type-1 fimbriae with mannose-sensitive lectins (e.g. E. coli, Salmonella) (Spring et. al. 2000)
2. improved intestinal function or "gut health"; e.g. increase of villi height, uniformity and integrity (Loddi et al., 2002)
3. Immune Modulation stimulates gut associated and systemic immunity by acting as a non-pathogenic microbial antigen, giving an adjuvant-like effect (Ferket et al., 2002)

Global pen trial research on MOS with modern strains of broiler chickens (Arbor Acres, Avian, Cobb, Ross, Hybro) and market turkeys (BUT or BUTA, Hybrid, Nicholas, Orlopp, Wrolstad) under a variety of dietary and environmental conditions were conducted.

However, the efficiency of MOS in diets of high performing broilers or in production systems with lower disease challenge has not been researched as fully. The aim of this study therefore is to determine the additional effects of MOS in highly productive broiler flocks such as those in the Netherlands.

Objective

The objective of this trial was to evaluate the effect of feeding MOS (Bio-Mos®, Alltech Inc., USA) to broilers in the starter diet (14 days) at 1.5 kg/t on the technical performance.

Material and methods

Set-up:

- 48 pens with 25 day old chicks/pen (as hatched) split over two treatments of 24 pens.
- Feeds were wheat/soy based within a three phase system: starter (day 1-14), grower (day 15-28) and finisher (day 29-36).
- MOS was added at 1.5 kg/t in starter diet only.

Measurements:

- Growth and FCR at 14, 28 and 36 days of age.
- Results were analysed by Anova. Significance was stated if $P < 0.05$.

Results and discussion

The addition of MOS to the starter diet resulted in significant higher end weights (+ 57 g) of the broilers. Furthermore average daily gain during the whole period was significantly increased by 1.4 g/d (Table 1). Whereas no significant changes in FCR were noted, the final FCR was numerical lower when MOS was added to the starter diet. EPEF was very high in the control, however feeding MOS increased EPEF with 16 points to 364.

These results are in accordance with findings of Hooge and Sefton (2004), Rosen (2007) and Sun et al. (2005). The first named authors analyzed 15 final reports from broiler field trials worldwide (1992 – 2002) for body weight, FCR, mortality and EPEF (European Poultry Efficiency Factor) when dietary mannan oligosaccharide (Bio-Mos®, Alltech Inc., USA) were evaluated. In these trials FCR, livability and EPEF were significantly improved by MOS addition to broiler diets.

Rosen (2007) published a holo-analysis of the efficacy of MOS (Bio-Mos®, Alltech Inc., USA) in broiler nutrition. In this analysis 32 published scientific studies with 82 trials with this specific MOS as positive treatment and a negative control are integrated to get an evaluation of MOS as a pronutrient for broiler. Multiple regression models indicated in conclusion of these available studies a positive impact on feed intake, live weight gain, FCR and mortality. 65 % and 70 % is the beneficial response frequency of the pool of studies for gain and conversion.

Spring et al. (2000) see the most important effect of MOS in preventing bacterial attachment to the host animal by providing the bacteria with a mannose-rich receptor that serves to occupy the binding sites on the bacteria and thus to prevent colonisation in the gut of the animal. The growth-promoting effect of MOS are therefore based on the inhibition of pathogenic bacteria, such as Coliform and *Salmonella spp.*, by blocking type-1 fimbriae on the bacterial surface. These sites are then colonised by beneficial bacteria, such as Lactobacilli and Bifidobacteria, and this results in better overall intestinal health.

Table 1: The effect of feeding MOS** in starter diet (0-14 d) on performance of the broiler

	Starter (14 d)		Starter + grower (28 d)		Full period (36 d)*	
	Control	MOS	Control	MOS	Control	MOS
Weight (g)	**459**	**463**	**1462**	**1486**	**2139** [a]	**2196** [b]
ADG (g/d)	**29.5**	**29.8**	**50.6**	**51.4**	**59.4** [a]	**61.0** [b]
FCR	**1.268**	**1.268**	**1.468**	**1.463**	**1.579**	**1.573**
FCR – 2 kg					**1.536**	**1.526**
EPEF***					**348**	**364**

* Values followed by a different letter are significantly different (p< 0,05);
** MOS = Bio-Mos® Alltech Inc.; starter diet 1,5 kg / t
*** EPEF = European Production Efficiency Factor
= (end weight - start weight) * (100 – mortality) / (days in production * FCR * 10)

Conclusion

It can be concluded from this trial that feeding MOS to the starter diet of high performing broilers enhanced growth significantly while feed conversion was not altered. This indicated that there is even under these conditions an economic advantage of using MOS.

References

Ferket, P.R., C.W. Parks and J.L. Grimes, 2002: Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. 22 Pages. In Proc. Multi-State Poult. Feeding and Nutri. Conf., Indianapolis, Indiana USA, May 14-16

Hooge, D. M. and A. E. Sefton, 2004: Performance evaluation of dietary mannan oligosaccharide for broiler chickens: Ten years of field trials analyzed. In World Poultry Congress. Istanbul, Turkey p. 529 (WPSA)

Loddi, M.M., L.S.O. Nakaghi, F. Edens, F.M. Tucci, M.I. Hannas, V.M.B. Moraes and J. Ariki, 2002: Mannoligosaccharide and organic acids on intestinal morphology integrity of broilers evaluated by scanning electron microscopy. Page 121. in Proc. 11th European Poult. Sci Conf., Bremen, Germany. Sept. 6-10.

Rosen, G., 2007: Holo-analysis of the efficacy of Bio-Mos in broiler nutrition, British Poultry Science, Volume 48, Number 1 (February 2007), pp. 21-26

Spring, P., C. Wenk, K. A. Dawson and K. E. Newman; 2000: The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chickens, Poultry Science 79: 205 211

Sun, X., A. McElroy, K. E. Webb jr., A. E. Sefton and C. Novak, 2005: Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets; Poultry Science 84: 1294-1302

Autorenanschrift

Dr. Lode Nollet
Alltech Netherlands B.V.
Office Belgium
Gentsesteenweg 190/1
9800 Deinze
Belgium
lnollet@alltech.com

Einfluss einer neuartigen Lignocellulose auf Gesundheitsstatus und Ausfallsquote in der Kaninchenmast

Ines Krieg[1], Ronald Krieg[1], Arthur Kroismayr[2], Josef Leibetseder[3], Klaus Neufeld[4], Nina Neufeld[4], Jürgen Zentek[5]

[1)] Kleintierzucht Krieg, Deutschland
[2)] Agromed Austria GmbH, Österreich
[3)] Institut für Ernährung, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich
[4)] Animal Nutrition Research Center, Österreich
[5)] Institut für Tierernährung, Freie Universität Berlin, Deutschland

Abstract

Providing an adequate diet which fulfils the rabbit's nutritional and physiological requirements is still a challenge for breeders. Severe digestive disorders especially diarrhoea but also constipation which is sometimes followed by diarrhoea symptoms are every day problems in rabbit breeding. Losses up to 30% are sad reality. Crude fibre fraction is without any doubt very important for the rabbit's digestion and health. Not only quantity of crude fibre but especially the adequate combination of dietary fibre is essential. Important criteria are supply with lignocellulose (lignin + cellulose at least 15% of the diet) and the lignin-cellulose-ratio (>0.4). The recommendation for fattening rabbits is a minimum daily intake of 5-7g lignin. In practice it is difficult to meet the rabbit's demand using a combination of traditional fibre sources. Consequently standardized dietary fibre supplements are particularly suitable for rabbit nutrition. The presented investigation tested a new lignocellulose product (OptiCell®, Agromed Austria GmbH) which is a standardized combination of fermentable and non-fermentable dietary fibre made from fresh wood. The positive effect of the test substance on animal health was proved in the presented feeding trials in rabbits. In trial A losses were reduced from 30% to 6%, in trial B1 and B2 cases of digestive disorders were reduced from 30% to 5% and 75% to 25% respectively. In the trials B1 and B2 no losses were recorded for the trial groups. In the critical post-weaning phase animals of the trial groups could be regarded as healthy and consequently showed improved performance.

Einleitung

Ernährungsfragen stellen Kaninchenzüchter und –mäster noch immer vor schwerwiegende Probleme. Regelmäßig sind Tiere in den ersten beiden Wochen nach dem Absetzen von Verstopfung oder schweren Durchfallerkrankungen betroffen, wobei die Symptome nicht selten ineinander übergehen. Ausfallsquoten von bis zu 30% in der Kaninchenmast sind traurige Realität.

Eine adäquate Rohfaserversorgung ist für die Gesundheit der Tiere und die Erhaltung physiologischer Verdauungsvorgänge von besonderer Bedeutung. Auf eine gute Versorgung mit Lignin und ein optimales Lignin-Zellulose-Verhältnis ist zu achten. Futtermittel auf Basis von Lignocellulose sind daher

in der Kaninchenmast zur Rohfaserergänzung besonders gut geeignet. Beschrieben werden zwei Fütterungsversuche mit einem Lignocelluloseprodukt (OptiCell® der Firma Agromed Austria GmbH), das durch die standardisierte Kombination fermentierbarer und nicht fermentierbarer Fasern einen neuen Weg in der Rohfasersupplementierung einschlägt. Durch den Einsatz des getesteten Lignocelluloseproduktes können Krankheitserscheinungen sowie Ausfallsquoten deutlich verbessert werden.

Material und Methode

Beschrieben werden drei Fütterungsversuche mit Mastkaninchen, alle Versuche fanden unter Feldbedingungen statt. Versuch A wurde in einem österreichischen Betrieb unter Leitung des Institutes für Ernährung der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt, Versuch B1 und B2 in einem Betrieb in Deutschland unter Aufsicht des Institutes für Tierernährung der Freien Universität Berlin.

Ziel der Versuche war es, den Einfluss einer neuen Rohfaserformulierung auf Gesundheit und Mastleistungsdaten zu evaluieren. Bei der Testsubstanz handelt es sich um ein Lignocelluloseprodukt, das sowohl fermentierbare sowie unfermentierbare Nahrungsfaser enthält. Dies ist erwähnenswert, da herkömmliche Lignocelluloseprodukte fast ausschließlich unfermentierbare Nahrungsfaser enthalten. Das getestete Produkt weist gemäß Herstellerangaben einen Rohfasergehalt von 53% und einen Ligningehalt von 30% auf. Der Anteil an Gesamtnahrungsfaser (TDF = total dietary fibre) liegt bei 85%.

Versuch A: Untersucht wurde in zwei Gruppen (Kontroll- und Versuchsgruppe) mit jeweils 100 Hyla/Zika Kaninchen unter praxisüblichen Bedingungen, beginnend nach dem Absetzen in einem Alter von 35 Tagen. Die Kontrollgruppe erhielt ein marktübliches Kaninchenmastfutter, wobei die Futtermittelanalyse einen Rohfasergehalt von 15,2% und einen Ligningehalt von 3,8% ergab. Die Tiere der Kontrollgruppe wurden mit einem durchschnittlichen Einzeltiergewicht von 850g eingestallt. Die Schlachtung erfolgte nach 66 Masttagen, wobei die Tiere im Durchschnitt 2,87kg erreicht hatten.

Das Futter der Versuchsgruppe enthielt einen Zusatz von 4% der Testsubstanz. Die Futtermittelanalytik für das Versuchsfutter ergab einen Rohfasergehalt von 14,1% bei einem Ligningehalt von 4,3%. Die Kaninchen der Versuchsgruppe wurden bei einem durchschnittlichen Einzeltiergewicht von 830g eingestallt, die Schlachtung erfolgte nach 67 Masttagen bei einem Durchschnittsgewicht von 2,83kg.

Die Tiere beider Gruppen wurden zu Versuchsbeginn und –ende gewogen. Es liegen lediglich Werte für die jeweilige Gesamtgruppe vor.

Die Ausfälle wurden vom betreuenden Landwirt mit Datum und vermuteter Ausfallsursache aufgezeichnet. Der Futterverbrauch wurde gemäß den Haltungsbedingungen lediglich für die jeweilige Gesamtgruppe ermittelt, eine Berücksichtigung des Futterverbrauchs der verstorbenen Tiere war nicht möglich.

Für den Versuch A wurde eine Ertragsberechnung durchgeführt. Dem Fleischerlös wurden die Futterkosten gegenübergestellt. Die Mehrkosten, die durch den Zusatz der Testsubstanz verursacht wurden, wurden in der Berechnung berücksichtigt.

Als statistisches Verfahren wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson durchgeführt.

Versuch B1: Untersucht wurde in zwei Gruppen (Kontroll- und Versuchsgruppe) mit jeweils 40 New Zeeland White Kaninchen (je 20 männliche und weibliche Tiere). Die Jungtiere stammten aus gleichgroßen Würfen und wurden zufällig ausgewählt. Die Aufstallung erfolgte randomisiert in praxisüblichen Boxen. Der Versuch erstreckte sich über einen Zeitraum von zwei Wochen nach dem Absetzen über einen Altersabschnitt von 28 bis 42 Tagen. Als Futter für die Kontrollgruppe wurde ein marktübliches Kaninchenmastfutter gewählt, die Futtermittelanalytik ergab einen Rohfasergehalt von 15,2% und einen Ligningehalt von 3,8%. Dem Versuchsfutter waren 4% der Testsubstanz zugesetzt, der Rohfasergehalt des Versuchsfutters lag bei 14,1% bei einem Ligningehalt von 4,3%.

Die Tiere der Kontrollgruppe wurden mit einem Durchschnittsgewicht von 562g eingestallt, die Kaninchen der Versuchsgruppe wogen zu Versuchsbeginn 544g. Die Wiegungen jedes Einzeltieres erfolgten zu Versuchsbeginn und am Ende des zweiwöchigen Versuchsabschnitts. Weiters wurden Erkrankungen und Ausfälle täglich festgehalten.

Die Daten wurden mittels Varianzanalyse ausgewertet.

Versuch B2 fand in dem gleichen Betrieb statt wie Versuch B1. Kontroll- und Versuchsgruppe bestanden aus jeweils 20 New Zeeland White Kaninchen. Die Tiere wurden am 28. Lebenstag mit einem Durchschnittsgewicht von 540g (Kontrollgruppe) und 542g (Versuchsgruppe) eingestallt. Dieser Versuch erstreckte sich über 21 Tage. Kontroll- und Versuchsfutter sowie die weitere Vorgangsweise waren wie in Versuch B1 beschrieben.

Ergebnisse

Im **Versuch A** war der Einfluss der Testsubstanz auf den Gesundheitsstatus der Tiere eindeutig erkennbar. In der Kontrollgruppe wurden 30 Ausfälle verzeichnet, somit erreichten von den anfangs 100 Tieren lediglich 70 Tiere das Versuchsende. Die Ausfälle waren alle auf Störungen des Gastrointestinaltrakts zurückzuführen. Die meisten Ausfälle wurden am Ende der zweiten Versuchswoche (11 Tiere verendeten am 12. Masttag) sowie in der vierten Woche (14 Kaninchen verendeten am 25. Versuchstag) verzeichnet.

Lediglich sechs Tiere der Versuchsgruppe verendeten, je zwei Tiere am 10., 11. Masttag und 37. Tag. Gemäß den Angaben des betreuenden Landwirtes waren in der Versuchsgruppe kaum Verdauungsstörungen zu beobachten, während in der Kontrollgruppe vom 11. bis 29. Versuchstag schwarzer Durchfallkot auftrat.

Eine Gegenüberstellung von Futterkosten und Fleischerlös ergab einen Mehrerlös von EUR 134,- oder 45% zugunsten der Versuchsgruppe.

Die Ergebnisse aus dem Versuch A sind in Tabelle 1 zusammengefasst und in Abbildung 1 veranschaulicht dargestellt.

Aufgrund der geringen Tierzahl und dem Fehlen von Einzeltierwiegungen konnten die Ergebnisse nicht statistisch abgesichert werden.

Tabelle 1:Versuch A war ein Fütterungsversuch mit Hyla/Zika-Kaninchen beginnend mit dem 35. Lebenstag Die Kontrollgruppe erhielt ein herkömmliches Kaninchenmastfutter, das Futter der Versuchsgruppe war mit 4% eines Lignocellulose-Produktes supplementiert.

Versuch A	**Kontrollgruppe**	**OptiCell® Gruppe**
Tierzahl zu Versuchsbeginn	100	100
Ausfälle (Stück)	30	6
Tierzahl zu Versuchsende	70	94
Ø Einzeltiergewicht zu Versuchsbeginn (g)	850	830
Ø Einzeltiergewicht zu Versuchsende (kg)	2,87	2,83
Durchfallhäufigkeit	hoch	niedrig
Ø Tageszunahme (g)	31	30
Futterverbrauch pro Gruppe (kg)	634	654
Futterverwertung (nicht ausfallbereinigt)	5,47	3,58
Versuchsdauer (Tage)	66	67
Ertrag (EUR)	293	427

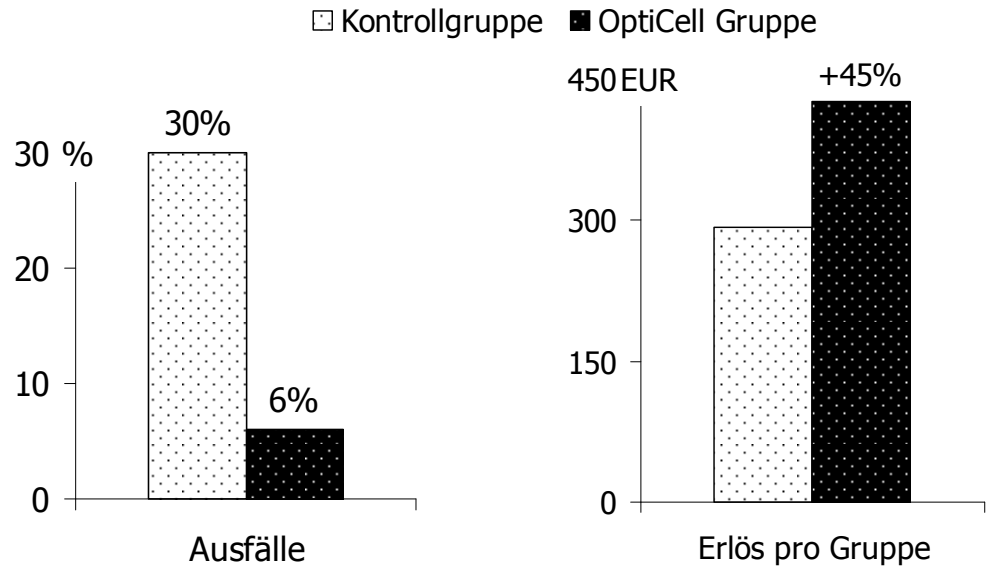


Abbildung 1:Ergebnisse aus Versuch A: Ausfälle aufgrund von gastrointestinalen Störungen häuften sich Ende der 2. und in der 4. Versuchswoche. Der Erlös wurde berechnet als Verkaufserlös minus Futterkosten.

Im **Versuchsstall B** zeichneten sich ähnliche Ergebnisse wie in Versuch A ab, allerdings mit weniger dramatischem Verlauf. In **Versuch B1** häuften sich gegen Ende der ersten Versuchswoche Verdauungsprobleme in der Kontrollgruppe, wobei großteils Obstipation zu verzeichnen war, die dann teilweise in Durchfallgeschehen überging. 30% der Tiere der Kontrollgruppe erkrankten an Störungen des Verdauungstraktes, 5% verendeten. In der Versuchsgruppe erkrankten lediglich 2 Tiere, eines davon nur einen Tag (Abbildung 2 und 3). Die Versuchsgruppe schnitt auch die Mastleistungsdaten betreffend besser ab als die Kontrollgruppe. Die Unterschiede in Lebendmassezunahme, Tagszunahme und Futterverbrauch ließen sich statistisch absichern ($p<0,01$). Die Ergebnisse aus Versuch B1 sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Versuch B2 bestätigte die Ergebnisse aus B1. In diesem Versuch wurde eine deutliche Häufung von Verdauungsstörungen gegen Ende der zweiten Versuchswoche festgestellt. Durchfall und Obstipation wechselten einander ab. In der Kontrollgruppe waren 75% der Tiere betroffen, 3 Tiere (15%) verendeten. Die Versuchsgruppe war in geringerem Ausmaß betroffen: 25% der Tiere erkrankten, in dieser Gruppe musste kein Ausfall verzeichnet werden (Abbildungen 2 und 4). Auch in diesem Versuch viel der Vergleich der Mastleistungsdaten zugunsten der Versuchsgruppe aus. Die Versuchsgruppe schnitt hinsichtlich Lebendmassezuname und Tageszunahme signifikant besser ab ($p<0,01$; Abbildung 5). Ergebnisse des Versuchs B2 sind Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 2:Versuch B1 war ein Fütterungsversuch mit New Zeeland White Kaninchen vom 28. bis 42. Lebenstag. (Die Kontrollgruppe erhielt ein herkömmliches Kaninchenmastfutter, das Futter der Versuchsgruppe war mit 4% eines Lignocellulose-Produktes supplementiert)

Versuch B1	**Kontrollgruppe**	**OptiCell® Gruppe**
Tierzahl zu Versuchsbeginn	40	40
Ausfälle (Stück)	2	0
Tiere mit gastrointestinalen Störungen	12	2
Ø Einzeltiergewicht zu Versuchsbeginn (g)	562	544
Ø Einzeltiergewicht zu Versuchsende (g)	1.129	1.162
Ø Lebendmassezunahme in 14 Tagen (g)	567[a]	618[b]
Ø Tageszunahme (g)	40,5[a]	44,14[b]
Ø Futterverbrauch pro Tier (g)	1.110[a]	1.193[b]
Futterverwertung (ausfallbereinigt)	1,96	1,93
Versuchsdauer (Tage)	14	14

[a,b]) statistisch signifikant ($p<0,01$)

Tabelle 3:Ergebnisse aus Versuch B2: Fütterungsversuch mit New Zeeland White Kaninchen vom 28. bis 49. Lebenstag
Die Kontrollgruppe erhielt ein herkömmliches Kaninchenmastfutter, das Futter der Versuchsgruppe war mit 4% eines Lignocellulose-Produktes supplementiert

Versuch B2	**Kontrollgruppe**	**OptiCell® Gruppe**
Tierzahl zu Versuchsbeginn	20	20
Ausfälle (Stück)	3	0
Tiere mit gastrointestinalen Störungen	15	5
Ø Einzeltiergewicht zu Versuchsbeginn (g)	540	542
Ø Einzeltiergewicht zu Versuchsende (g)	1.380	1.468
Ø Lebendmassezunahme in 21 Tagen (g)	840[a]	926[b]
Ø Tageszunahme (g)	40,0[a]	44,09[b]
Ø Futterverbrauch pro Tier (g)	1.926	2.060
Futterverwertung (ausfallbereinigt)	2,29	2,23
Versuchsdauer (Tage)	21	21

[a,b]) statistisch signifikant (p<0,01)

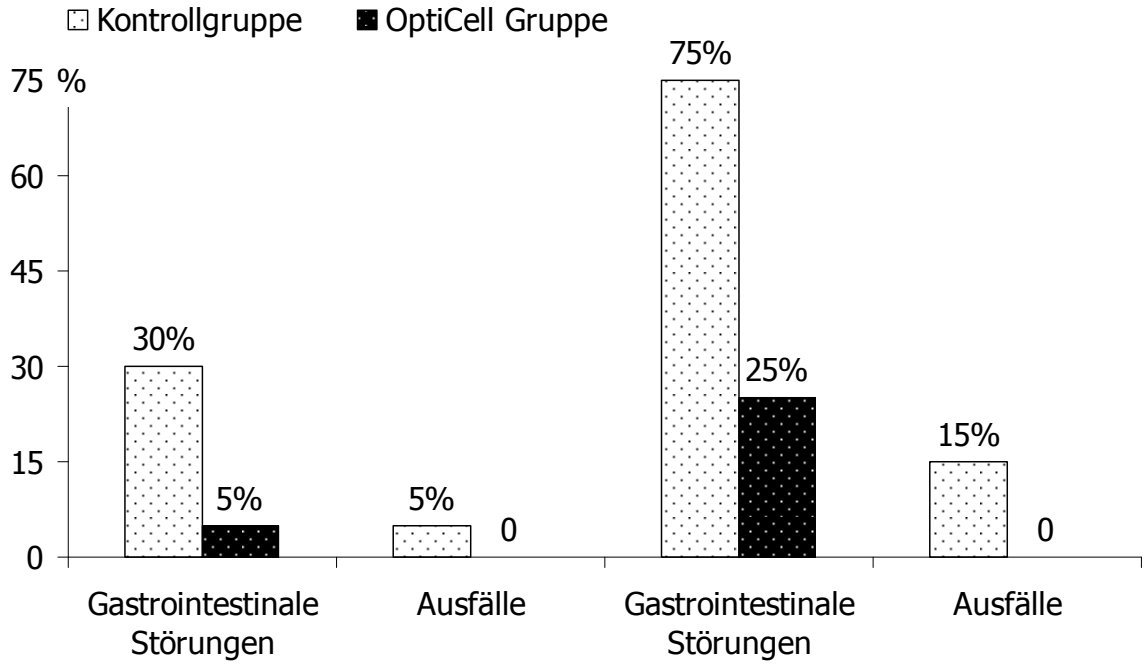


Abbildung 2:Gesundheitsstatus der Tiere im Versuchsstall B: Versuch B1 (links) und Versuch B2 (rechts)

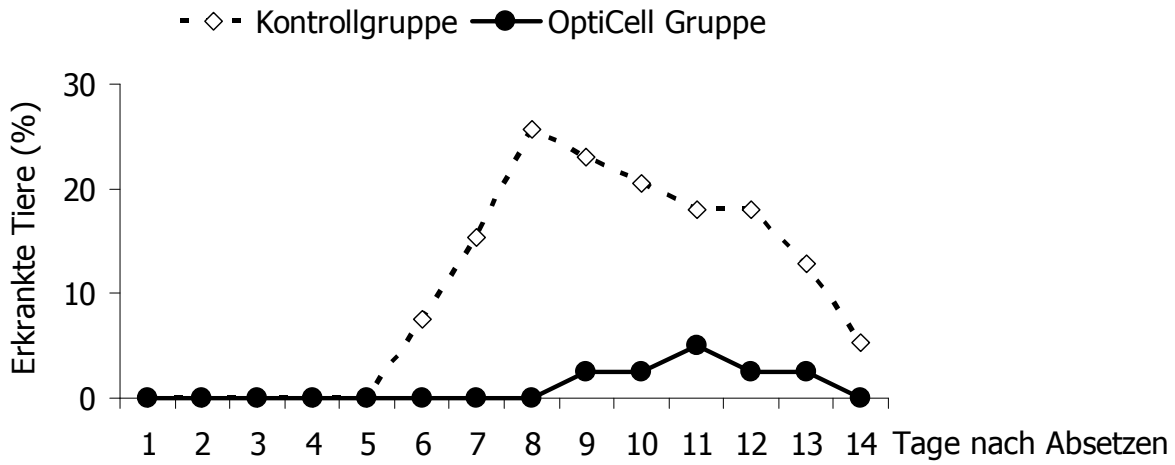


Abbildung 3:Ergebnisse aus Versuch B1: Verlauf der Erkrankungen (gastrointestinale Störungen) im absetznahen Zeitraum mit herkömmlichem Kaninchenmastfutter (Kontrollgruppe) und unter 4%iger Supplementierung eines Lignocellulose-Produktes.

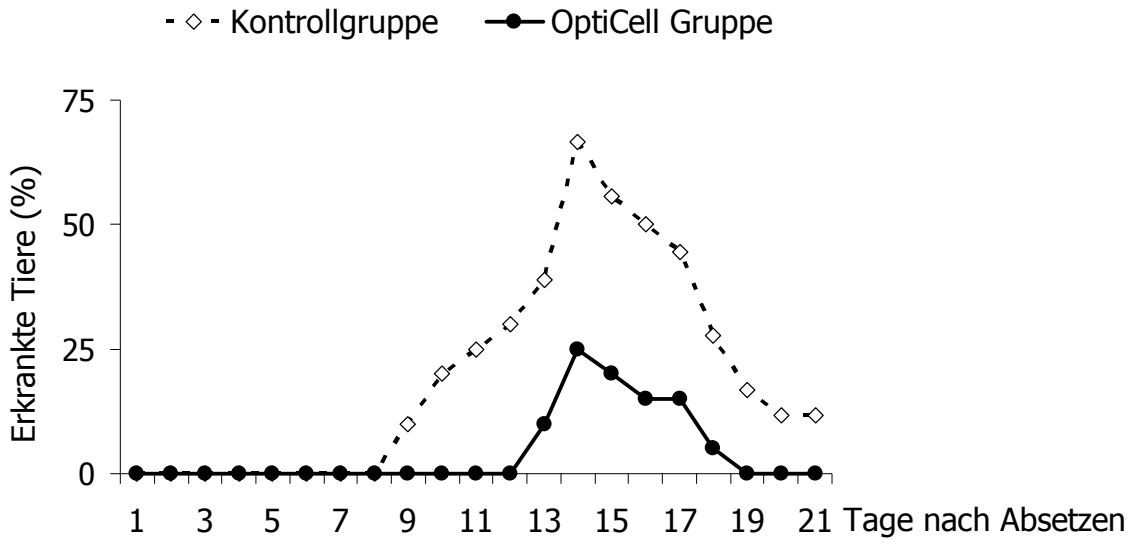


Abbildung 4:Ergebnisse aus Versuch B2: Verlauf der Erkrankungen (gastrointestinale Störungen) im absetznahen Zeitraum

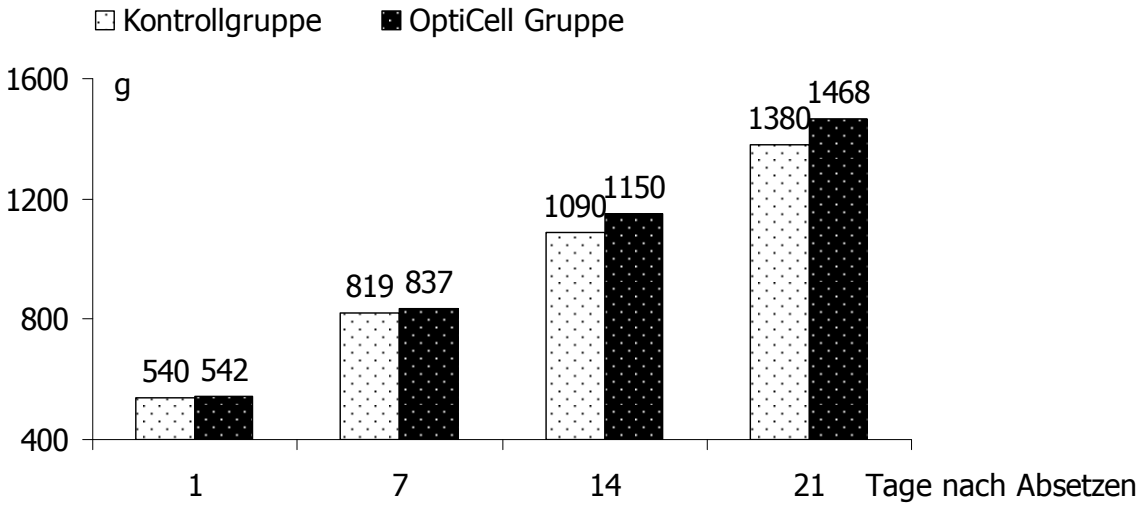


Abbildung 5:Ergebnisse aus Versuch B2: Entwicklung der Lebendmasse

Ab dem 14. Versuchstag weist die Versuchsgruppe eine signifikant höhere Lebendmasse auf ($p<0,01$).

Diskussion

Eine den ernährungsphysiologischen Bedürfnissen angepasste Rationsgestaltung stellt Kaninchenzüchter und –mäster vor eine schwierige Aufgabe. Schwerwiegende Probleme aufgrund von Verdauungsstörungen insbesondere durch Diarrhoe aber auch bedingt durch Obstipationen, die teilweise in ein Durchfallgeschehen übergehen, sind in der Kaninchenmast an der Tagesordnung. Größenordnungen von 30% erkrankter Tiere ebenso wie Ausfallsquoten der gleichen Dimension wie in den vorgestellten Versuchen beschrieben, sind keine Seltenheit sondern traurige Realität. Der Einfluss des Rohfaseranteils der Ration auf die Verdauungsstabilität ist insbesondere beim Kaninchen unbestritten (Bellier and Gidenne, 1996; YU and CHIOU, 1996; GIDENNE, 1997). Von Bedeutung ist nicht nur eine ausreichende Rohfaserversorgung sondern auch eine adäquate Kombination an Nahrungsfasern. Als wichtige Kriterien gelten die Versorgung mit Lignocellulose (Lignin + Zellulose mindestens 15% in der Ration) und das Verhältnis Lignin zu Zellulose (>0,4). Für Mastkaninchen wird eine tägliche Aufnahme von 5-7g Lignin empfohlen (GIDENNE et al., 1999; NICODEMUS et al., 1999; GIDENNE T, 2000). Das Erreichen dieser Vorgaben durch die Kombination traditioneller Rohfaserträger gelingt in der Praxis offenkundig nicht. Die Vorteile von standardisierten Produkten zur Rohfasersupplementierung liegen daher auf der Hand.

Produkte auf Basis von Lignocellulose werden aus unbehandeltem Frischholz hergestellt und haben sich bei anderen Tierarten insbesondere bei Zuchtsauen aber auch im Schweinemastbereich und beim Mastgeflügel bewährt. Herkömmliche Lignocelluloseprodukte enthalten fast ausschließlich unfermentierbare Nahrungsfaser. In den beiden vorgestellten Versuchen wurde ein neuartiges Lignocelluloseprodukt (OptiCell®, Firma Agromed Austria GmbH) – eine Kombination fermentierbarer und unfermentierbarer Nahrungsfasern - getestet. In beiden Versuchen war der positive Einfluss auf den Gesundheitsstatus der Tiere offensichtlich. In Versuch A konnte die Ausfallsrate von 30% auf 6% gesenkt werden, in Versuch B1 wurden die Krankheitsfälle von 30% auf 5% reduziert. Die

Versuchsgruppe hatte hier keine Ausfälle zu verzeichnen. Ähnlich die Ergebnisse in Versuch B2: Gastrointestinale Störungen wurden von 75% auf 25% reduziert, in der Kontrollgruppe verendeten 15% der Tiere wogegen in der Versuchsgruppe keine Ausfälle zu verzeichnen waren. Die Tiere der Versuchsgruppen aller beschriebenen Versuche waren in der besonders kritischen absetznahen Phase als weitgehend gesund zu bezeichnen und erbrachten dementsprechend bessere Leistungen. GIDENNE (2000) beschreibt den Einfluss von Lignocellulose auf den Gesundheitsstatus von Mastkaninchen. In einer experimentellen Studie wurde gezeigt, dass Erkrankungen und Ausfälle mit dem Lignocellulosegehalt der Ration korrelieren. Die Autor beschreibt, dass die Rate von Mortalität plus Morbidität von 18% auf 28% ansteigt, sobald der Lignocellulosegehalt der Ration von 19% auf 15% reduziert wird. In den vorliegenden Versuchen konnten durch den Zusatz von 4% der Testsubstanz wesentlich deutlichere Effekte erzielen.

Schlussfolgerung

Der Zusatz von 4% der Testsubstanz (OptiCell®, Firma Agromed Austria GmbH) zeigte in mehreren unabhängigen Versuchen eine positive Wirkung auf die Tiergesundheit unter Praxisbedingungen. Die erzielten Effekte sind aus Gründen des Tierschutzes und als Maßnahme zum Konsumentenschutz (geringerer Medikamenteneinsatz zu erwarten) bedeutsam. Aus Sicht von Züchtern und Mästern ist der Einsatz der Testsubstanz ökonomisch sinnvoll.

Literatur

Bellier R., Gidenne T. (1996): Consequences of reduced fibre intake on digestion, rate of passage and caecal microbial activity in the young rabbit.

Br J Nutr. 75 (3): 353-363

Gidenne T. (1997): Caeco-colic digestion in the growing rabbit: Impact of nutritional factors and related disturbances.

Livest. Prod. Sci. 51, 73-88

Gidenne T. (2000): Recent advances in rabbit nutrition: Emphasis on fibre requirements: A rewiew.

World Rabbit Sci. 8 (1): 23-32

Gidenne T., Pinheiro V., Falcao e Cunha L. (2000): A comprehensive approach of the rabbit digestion: consequences of a reduction in dietary fibre supply.

Livest. Prod. Sci. 64 (2), 225-237 (13)

Nicodemus N., Carabano R., Garcia J., Mendez J. De Blas J.C. (1999): Performance response of lactating and growing rabbits to dietary lignin content.

Anim. Feed Sci. Teechnol. 80: 43-54

Yu B., Chiou P.W. (1996): Effects of crude fibre level in the diet on the intestinal morphology of growing rabbits.

Lab Anim. 30 (2): 143-148

Autorenanschrift

Dr. Nina Neufeld
Animal Nutrition Research Center
Sattelbach 13
A-2532 Heiligenkreuz
Österreich
E-mail: ddr.neufeld@utanet.at

agromed
natural effects
Futtermittelzusätze
aus 100%
Natur
= 300%
mehr Erfolg
Für alle landwirt-
schaftlichen Nutztiere
agromed Austria GmbH
Bad Hallerstr. 23 - A-4550 Kremsmünster - Tel: +43 (0) 7583 | 5105 - Fax 40
e-mail: info@agromed.at - www.agromed.at

Effect of dietary herbal extracts on health and performance of rabbits

Ľubica Chrastinová[1], Mária Chrenková[1], Andrea Lauková[2], Ján Rafay[1], Monika Simonová[2], Zuzana Vasilková[2], Renáta Szabóová[2], Viola Strompfová[2], Ľubomír Ondruška[1],Štefan Faix[2], Iveta Plachá[2]

[1]Slovak Agricultural Research Centre, Institute of Animal Nutrition, Nitra
[2]Institute of Animal Physiology of Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

Introduction

Natural herbs are being explored as alternatives to antimicrobials. They contain different (bio) active substances. The use of supplements containing herbal extract is widespread and increased both in human and veterinary medicine in Slovak Republic.

Origanum vulgare L. aetherolum (oregano) and *Salvia officinalis L*.aetherolum (sage) usually have antibacterial, antioxidant and antiphlogistic effect, stimulate organic and microbial digestion. The essential oil of oregano consisted of 55% carvacrol and sage 25% thujon, 18% borneol and 15% cineol.

The aim of this study was to examine, microbiological, zootechnological, and biochemical parameters in the digestive tract of rabbits.

Material and Methods

A total of 96 rabbits (5-weeks old, male sex) were divided into 2 experimental (EG) and one control groups (CG).

In the individual groups were tested:

1. The diet fed to the control group did not contain any coccidiostatic drugs and rabbits were not inoculated.
2. The complete granulated mixture was fed only and Oregano was administered as the essential oil of *Origanum vulgare L.* aetherolum (10 µl /animal/day in the drinking water) for the period of 21 days to the EG Oregano.
3. The complete granulated mixture and Sage was administered as the essential oil of *Salvia officinalis L*. aetherolum (10 µl /animal/day in the drinking water) for the period of 21 days to the EG Salvia.

The experiment lasted for 42 days until the animals attained the slaughtering weight 2.5 kg. Body weight and feed consumption were registered weekly. Three animals from each group were slaughtered on 21st and 42nd day:

The samples of Musculus longissimus dorsi (MLD) were collected immediately after death and stored for 24 h at 4°C. Then were made standard physico-chemical analysis (according STN 57 0185).

The caecal samples from each of three slaughtered rabbits were collected for caecal bacteria analyses. Digesta was analyzed for pH and VFA, ammonia-N and content lactic acid.

Data were subjected to two way ANOVA. The means and standard deviation of the generated data per group were determined. For the subsequent statistical analysis the data were examined for significant differences using the t-test.

Results and discussion

The experimental diets were balanced on nutrients content and energy value (Table I).

Table I. Ingredients and chemical composition of feed mixture

Ingredients	g/kg	Chemical analysis	g/kg
Dehydrated alfalfa meal	400	Dry matter	885,4
Dehydrated sugar beet pulp	100	Crude protein	164.2
Oats	130	Crude fibre	171.7
Wheat middling	60	Fat	33
Dry malting gems	50	Nitrogen free extract	446.9
Sunflower meal	140	Organic matter	815.8
Monocalcium phosphate	6	Starch	139.4
Sodium chloride	3	Ash	69.6
Limestone, pulverized	9	Calcium	9.3
Soybean meal (extruded)	75	Phosphorus	6.9
Vitamin premix*	1	Lysine	7.5
Carob meal	25	MET+CYS	6.5
DL- methionine + Wheat flour	1	ME ($MJ.kg^{-1}$)	10

*Provided per kg of diet: vit. A 12000 IU; vit. D_3 2500; vit. E 20 mg; vit. B_1 1.5 mg;

B_2 7.5 mg; B_6 4.5 mg; vit. B_{12} 30 µg; vit. K 3 mg ; nicotinic acid 45 mg; folic acid 0.8 mg; biotin 0.08 mg;

Choline chloride 450 mg

The study was carried out in March and April 2007. We used the meaty line of the New Zealand White hybrid rabbits, reared in an intensive rabbitry in Slovak Agricultural Research Centre Nitra in Slovak Republic. There were used 96 rabbits in experiment. They were weaned at 35 days and divided into 3 groups (2 rabbits per cage). We did not find large differences among experimental groups in feed intake, body weight, mean daily gain and carccas value in the fattening experiment (Table II).

Table II. Effect of treatment on performance of rabbits

Parameter	Control	Oregano	Salvia
Number of animals in groups	24	24	48
Initial weight in g	940	950	970
Live weight on 56th day of age in g	1843	1734	1824
Final weight in g	2580	2521	2500
Daily gain in g	40.5	38.9	36.4
Mortality (n)	5	4	2
Feed conversion ratio between 35th and 56th day (g/g)	3.45	3.01*	2.93*
Feed conversion per kg gain	3.63	3.49	3.5
Carcass value (%)	52.26	53.02	52.25

*P≤0.05 Significantly different from control

Feed consumption per kg gain was the lowest in group with the supplement of Oregano and Sage. The rabbits were slaughtered before morning feeding for observation of fermentation processes in the ceacum. Concentration of observed VFA shows, that most intensive process was in the caecum of rabbits in experimental groups (Table III). The lower concentration of ammonia-N effects of pH value. The lowest pH was in the ceacum of rabbits with the supplement of Oregano and Sage in drinking water. The application of mentioned additives was associated with reduction of staphylococci, including *Staph. aureus*, *E. coli* and clostridia, the count of oocysts was reduced like by Gössling, 2001. The similar results were achieved by Chaves et all. (2006) and Lauková et all. (2007The application of natural herbs additives increased concentration of fat in rabbit meat (P≤0.05), and energetic value of meat was also increased significantly (P≤0.05; P≤0.01) in bouth experimental groups (Tab. IV).

Table III. Qualitative parameters in caecum

Parameter (n=3)	Control	Oregano	Salvia
In 56th. day of age			
pH	6.24	5.84	6.14
N-NH_3 ($mmol.l^{-1}$)	18.8 ±0.76	13.4±4.12	9.31±4.95*
Lactic acid ($g.100g^{-1}$)	0.041±0.01	0.049±0.01	0.059±0.01
Acetic acid ($mmol.100g^{-1}$)	4.185±1.152	4.967±0.721	4.579±0.49
Propionic acid ($mmol.100g^{-1}$)	0.276±0.03	0.372±0.066	0.282±0.044
Butiric acid ($mmol.100g^{-1}$)	1.109±0.107	1.386±0.463	1.394±0.054
Other VFA ($mmol.100g^{-1}$)	0.128±0.019	0.162±0.017	0.121±0.018
In 77th. day of age			
pH	6.08	5.94	6.11
N-NH_3 ($mmol.l^{-1}$)	9.1±6.6	11.4±4.9	10.3±6.6
Lactic acid ($mmol.100g^{-1}$)	0,044±0.01	0.024±0.01*	0.029±0.01*
Acetic acid ($mmol.100g^{-1}$)	4.949±1.491	6.063±0.726*	5.00±0.095
Propionic acid ($mmol.100g^{-1}$)	0.451±0.245	0.527±0.078	0.399±0.092
Butiric acid ($mmol.100g^{-1}$)	1.253±0.523	1.698±0.154*	1.566±0.235*
Other VFA ($mmol.100g^{-1}$)	0.126±0.061	0.159±0.028	0.151±0.021

*P≤0.05 Significantly different from control

Table IV. Physico-chemical characteristics of rabbit meat (MLD)

Parameter (g/100g)	Control	Oregano	Salvia
pH_{24}	5.68	5.67	5.71
Content of water	76.0±0.4	74.9±0.7	76.07±0.36
Water holding capacity	29.3±2.1	33.3±1.1	32.8±2.9
Content of fat	1.4±0.3	2.33±1.1*	3.53±0.8**
Total proteins	21.63±0.13	21.8±0.5	21.37±0.5
Energetic value ($kJ.100g^{-1}$)	417.6±10.3	451.4±3.4*	491.27±8.3**

*P≤0.05; **P≤0.01 Significantly different from control

Conclusion

Antibacterial effect of oregano and sage was discussed in experiments with rabbits. Phytoadditives did not influence negatively biochemical parameters in blood, and caecum of rabbits. They positively influenced mortality as well as increased live weight and the energetic value of meat.

References

STN 46 7092 Metódy skúšania krmív (Methods of feeds analyses), Bratislava, 1985

GÖSSLING, A. 2001: Wirkung eines OreganoöL- Zusatzes als Futteradditiv auf die Darmflora von Absetzferkeln, Dissertationn, Hannover

CHAVES, A.V., STANFORD, K., GIBSON, L., MCALLISTER. T.A., BENCHAAR, C., 2006: Effect of carvacrol and cinnamaldehyde on performance of growing lambs. EAAP-57TH Annual Meeting, Antalya 2006, 115

LAUKOVÁ, A., CHRASTINOVÁ, Ľ., SZABÓOVÁ, R., HAVIAROVÁ, M., STROMPFOVÁ, V., SIMONOVÁ, M., PLACHÁ, I., FAIX, Š., CHRENKOVÁ, M., MOJTO, J., RAFAY, J., PORÁČOVÁ, J., 2007: Phytoadditives and their beneficity in rabbits breeding. Slovak Veterinary Journal, 1/2007, 40-42.

Address of corresponding author

Ing. Mária Chrenková, PhD.
[1]Slovak Agricultural Research Centre, Institute of Animal Nutrition, Nitra
Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovakia
e-mail: chrenkova@scpv.sk

The Evaluation of Phytogenic Additives Using in Pig Nutrition

P. Mareš, L. Novák, L. Zeman, P. Kratochvílová, M. Večerek

Mendel University of Agriculture and Forestry Brno

Introduction

Wide spectrum of phytogenic secondary metabolites has bacteriostatic effects against different bacterial species. However their potential properties depend on antagonistic and synergistic relations with other compounds of herbs extract, feed mixture, intestinal enzymes and others. Antimicrobial properties can be used during feed storing, mixture production and final animal nutrition. The research results describe effects against sporulating and non-sporulating Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, yeasts and fungi. There is lot of plants species used to bring positive effect into animal nutrition.

One of these plants specie is thyme (*Thymus vulgaris L.* – *Lamiaceae* family). Thyme is persistent evergreen woody species with petiolate leafs with liny leaf blade, white tomentous on the back. Inflorescence is compound from slightly purple flowers. Thyme is natured in Mediterranean area and produced also in Russia, Bulgarian, India, and USA. Thyme plants contain metabolites from mono-terpens group: thymol, carvacrol, 1,8-cineol, limonen, linalol, linalylacetate, p-cymen, bornylacetate, borneol, g-terpinen, terpinen-4-ol, myrcen, from sesqui-terpens group: b-cadinen, b-caryofylen, and d-cadinen. Further the plant contains tri-terpens, tanstuffs, flavonoids, bitter substances, phenolic and tri-terpenic acids.

Hernandez et all. (2004) describe positive effect of thyme extract (together with rosemary and sage) on dry matter and starch digestibility in poultry nutrition. On the second site the experimental treatment has no effect on crude protein digestibility and intestinal development (evaluated through weight proportion of intestinal parts). Haroun et all. (2002) confirm safety of supplementation of 10% thyme leafs in feed mixture for laboratory animals. This additive has no effect on health status as well as on growth intensity of experimental animals.

Material and methods

We realized three experiments with different categories of pigs to evaluate effect of thyme essential oil on pigs' production.

First trial used 23 gilt-piglets with average initial weight 7.33 resp. 7.32 kg according to experimental groups. Piglets were housed in two different pens with plastic floor in total pen. There was heated mattress, two feeding pump, and feeder with 6 places. The pen's area was 6.3 m^2. Piglets were weight every two weeks and the experiment duration was 28 days. Individual body weight was measured with accuracy ± 25 grams. Piglets were identified by individual ear-marks. In the stable were measured and recorded automatically the air temperature and humidity every 30 minutes all day. The feed mixture was based on following compounds: wheat, barley, maize, soybean extract meal (45 % of crude protein - CP), fish meal, milk products, energy supplements (fat acids) mineral

and vitamin additives. The experimental treatment was realized in mixture for one experiment group and contains supplementation of thyme essential oil. The mixture was granulated (4 mm pellets). Feed intake of feed mixture was not limited and was measured on pen level.

The second trial was similar as the first one; however the was monitored 21 castrated boars-piglets with initial body weight 7,34 kg (treated group) and 8,63 kg (control group). The experiment duration was 35 days. The housing, feed mixture, pig efficiency evaluation, experimental treatment was same as in previous experiment.

The third experiment was focused on fattened pigs with initial body weight 26,7 kg and the duration of the trial was 78 days. Only castrated boars (n=28) were put into experimental evaluation. Pigs were stabled in pen with concrete floor, with feeding pump and feeder with 4 places. The pen area was 11.9 m^2 and there were housed 4 animals per pen. Pigs were individually marked (ear-marks) and weight every two week with accuracy ± 250 grams. Air temperature and humidity was measured and recorded automatically every 30 minutes. Feed mixture was based on wheat, barley, soybean extract meal (46 % of CP) and mineral/vitamins premix. Experimental mixture were supplemented by thyme oil, all mixtures were granulated (4 mm pellets) a feed intake was managed ad-libitum. Feed intake was measured weekly per pen. The water intake was not monitored even in all experiments.

Results and discussion

In first trial with gilt-piglets we reach the final average body weight in treated group 15.80 kg and in control group 15.21 kg that means following level of growth: AVG was 309 g resp. 278 g per animal and day. The feed intake was realized on level of 0.69 resp. 0.67 kg of feed mixture (88 % of DM). The calculated feed mixture conversion is 2.23 resp. 2,41 kg of feed per kg of gain. No differences between results of treated and untreated control were significant at level $P<0.001$.

In the second experiment the final average body weight of pigs was 20.50 kg (treated group) and exactly same 20.50 kg in control group. It means the average daily gain (ADG) of pigs in treated group was 362 g resp. 339 g per animal and day. The average daily feed intake (FI) of feed mixture (with dry matter – DM content 880 g/kg of mixture) was 0.83 kg resp. 0.89 kg per animal and day. The feed conversion shows better efficiency of pigs in treated experimental group: 2.29 kg of mixture per kilogram of gain vs. 2.63 kg/kg. No differences between results of treated and untreated control were significant at level $P<0.001$.

The third experiment finished with pigs almost in body weight before slaughter. The experimental treated group reaches the level of average body weight of 96.29 ± 10.60 kg and control group 94.07 ± 8.61 kg. ADG was calculated as 0.92 ± 0.13 kg per animal and day in group with thyme oil supplementation and 0.89 ± 0.10 kg per animal and day in untreated control. The average feed intake was found out on level 2.10 ± 0.12 resp. 2.14 ± 0,23 kg per animal and day. These results represent the feed conversion 2,36 resp. 2.40 kg of feed per kg of gain. No differences between results of treated and untreated control were significant at level $P<0.001$.

The presented results correspond with data of other authors mentioned above. We can compare these results with *in vitro* experiments presented previously (Mares et al, 2006). Mentioned paper shows the antibiotic properties of thy oil used in "*in vitro*" experiments with model organism *Clostridium perfringens*. In that work the essential oil limited the growth of this pathogen effectively from level 0.01 % in bacterial growth medium. The feed and intestinal enzymes addition needed higher content of oil however the level 0.2 % content of essential oil successfully eliminated the bacteria grow in simulated experiment with chicken chymus.

Conclusion

On the base of mentioned data we can select the thyme (*Thymus vulgaris L.*) and its extracts as really potential plant for improving of animal efficiency and health. Different authors show positive properties of thyme essential oil through human and animal nutrition. Also in our experiment we can see positive effect of thyme oil supplementation in pigs feed mixture and summary of this efficiency improving is showed in Table.

Table: Improving of efficiency parameters monitored in experiments (percentage increase connected with experimental treatment compared with control data)

Efficiency parameter	1st experiment	2nd experiment	3rd experiment
Average daily gain	10,0%	6,3%	3,2%
Feed intake	2,3%	-7,2%	-1,9%
Feed conversion	8,1%	14,8%	1,7%

Literature

Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias MD. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poult Sci. 2004 Feb;83(2):169-74.

Haroun EM, Mahmoud OM, Adam SE. Effect of feeding Cuminum cyminum fruits, Thymus vulgaris leaves or their mixture to rats. Vet Hum Toxicol. 2002 Apr;44(2):67-9.

Mareš P, Zrůstová J, Brooker J. Effects of feed, enzyme supplements and gut digesta on the anti-Clostridial activity of essential oils and condensed tannins. In *37th International Symposium on Essential Oils.* Grasse, France: 2006, s. 97.

Wenk, C. Herbs, spices and botanicals: 'Old fashioned' or the new feed additives for tomorrow's feed formulations? Concepts for their successful use. Biotechnology in the Feed Industry. 200, p. 79 – 96.

Peter KV. Handbook of herbs and spices. Volume 2. 2004 Woodhead Publishing Ltd.

Author

Ing. Petr Mareš
Mendel University of Agriculture and Forestry Brno
Faculty of Agronomy
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Zemědělská 1
613 00 Brno
e-mail: maresp@mendelu.cz

Untersuchungen zur Wirkung eines phytobiotischen Zusatzstoffes auf die Entwicklung von Aufzuchtkälbern

S. Großpötzl[1], A. Kroismayr[1], W. Windisch[1] und C. Plitzner[1]

[1] Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Die Remontierung in Milchviehbetrieben erfordert eine kontinuierliche Versorgung mit gut entwickelten Kalbinnen. Eine gesunde Kälberaufzucht ist die Basis hierfür. Deshalb haben die Milchviehhalter großes Interesse, durch eine optimale Haltung und Versorgung die Entwicklung der Kälber zu fördern und ihre rasche Entwicklung zum Wiederkäuer zu stimulieren. Eine noch größere Bedeutung erlangte die gesunde Aufzucht mit dem Verbot des Einsatzes aller antibiotischen Leistungsförderer in der Tierernährung, welches am 01.01.2006 in Kraft trat. Seitdem wird nach ebenso wirksamen Alternativen gesucht, die sowohl für den Produzenten als auch den Konsumenten eine verträgliche Lösung bieten. Mögliche Alternativen stellen organische Säuren, Enzyme, Probiotika, Prebiotika und Phytobiotika dar. Vor allem Phytobiotika haben in der menschlichen Ernährung und der Humanmedizin eine lange Tradition. Dieses Wissen über die positiven Wirkungen der Pflanzen kommt nun auch verstärkt in der Tierernährung zur Anwendung. Hier werden phytobiotische Zusatzstoffe vor allem wegen ihrer antimikrobiellen und antioxidativen Effekte eingesetzt. Darüber hinaus wird ihnen eine geschmacksverbessernde Wirkung nachgesagt, die sich in einer Stimulierung der Futteraufnahme niederschlagen soll. Letzteres sollte in einer Fütterungsstudie mit Aufzuchtkälbern überprüft werden.

Material und Methoden

Die Studie wurde mit 18 weiblichen Kälbern der Rasse Holstein am Betrieb Großpötzl durchgeführt. Die Kälber wurden bis zur 11. Lebenswoche nach Rationsliste gefüttert. In der ersten Woche erhielten die Kälber dreimal täglich je 2 l Biestmilch. Danach wurden sie auf Milchaustauscher (MAT) umgestellt. Die Milchaustauschertränke erfolgte zweimal täglich über Saugeimer. Neben Milchaustauscher stand den Kälbern Kraftfutter, Heu und Wasser ad libitum zur Verfügung.

An beide Tiergruppen wurde ein MAT der laut Herstellerangaben 22 % Rohprotein und 16 % Rohfett enthielt, gefüttert. Die Milchaustauscher-Konzentration betrug 100 g pro Liter Wasser, die Tränketemperatur lag um die 38 ºC. Wie Abbildung 1 zeigt, wurde die Tränkemenge anfangs von 5 auf 6 l/Tag gesteigert und ab der Vollendung der siebten Lebenswoche kontinuierlich reduziert. Als Kraftfutter wurde den Tieren ein Kälberstarter mit 21,5 % Rohprotein und 10,1 MJ ME (laut Herstellerangaben) verfüttert.

Bei der Hälfte der Kälber wurde dem Milchaustauscher und dem Kraftfutter ein phytobiotischer Zusatzstoff mit den ätherischen Ölen Carvacrol, Thymol, Anethol und Limonen zugesetzt. Für den Milchaustauscher wurde das Produkt Biomin® P.E.P. sol. in einer Dosierung von 60 ml je 1000 Liter Tränke eingesetzt (entspricht 30 mg ätherische Öle je Liter Tränke), für das Kraftfutter das Produkt Biomin P.E.P.1000® in einer Dosierung von 2 g/kg (entspricht 40 mg ätherische Öle je kg Futter).

Beide Produkte wurden von der Firma Biomin GmbH Herzogenburg, Austria bereitgestellt und enthielten jeweils die gleichen Basiskomponenten in unterschiedlicher Form (flüssig – fest) bzw. Verdünnung.

Die Kälber wurden einzeln in Iglus, ausgestattet mit einer Heuraufe und Kraftfutterschale, gehalten, sodass eine Erhebung der individuellen Futteraufnahme möglich war. Die Zuteilung der Tiere zu den beiden Fütterungsvarianten erfolgte unter Berücksichtigung des Verwandtschaftsgrads, um die genetischen Unterschiede der Tiere so gering als möglich zu halten.

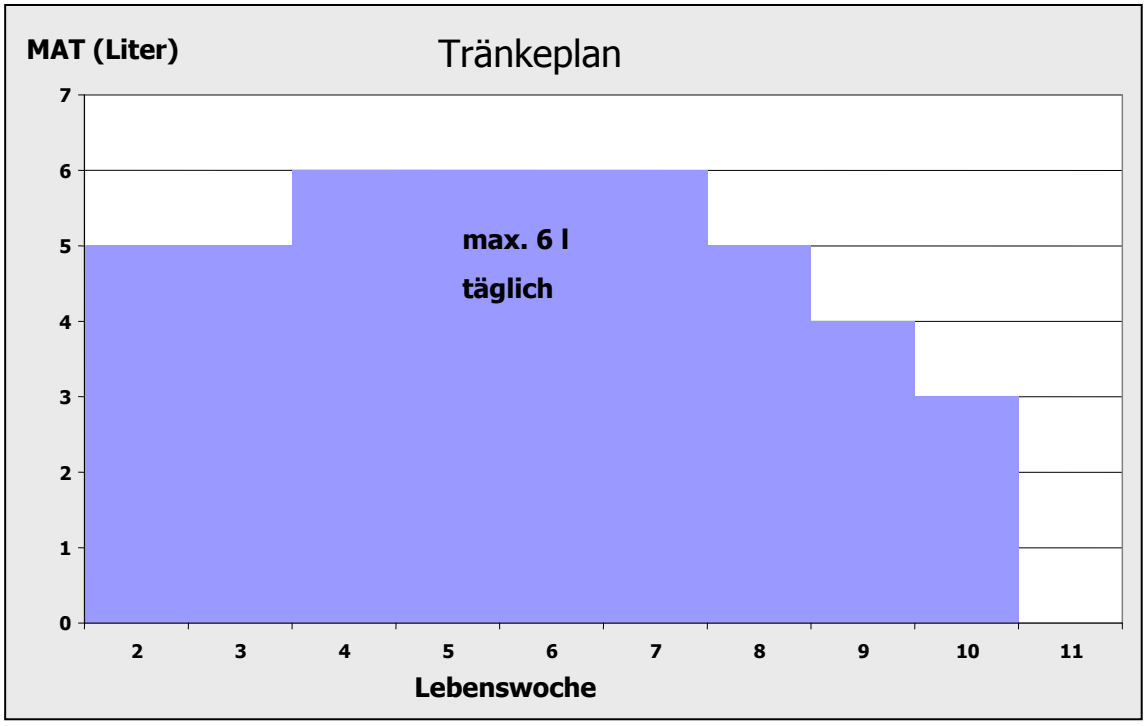


Abbildung1: Tränkeplan

Der Versuch erstreckte sich über eine Dauer von 10 Wochen, d.h. es wurde nach dem Absetzen in der 10. Lebenswoche noch die 11. Lebenswoche in den Betrachtungen miteinbezogen, in der Heu und Kraftfutter *ad libitum* gefüttert wurde.

Die Lebendmasse der Kälber wurde wöchentlich erhoben. Die Milchaustauschermengen und das aufgenommene Kraftfutter wurden pro Mahlzeit tierindividuell festgehalten. Die Erhebung der Heuaufnahme wurde tierindividuell wöchentlich erhoben. Die Erfassung der Kotkonsistenz erfolgte nach einem Schema von 1 bis 5, wobei 1 für zu festen Kot stand und die Beurteilung 4 bei akutem Durchfall vergeben wurde.

Ergebnisse

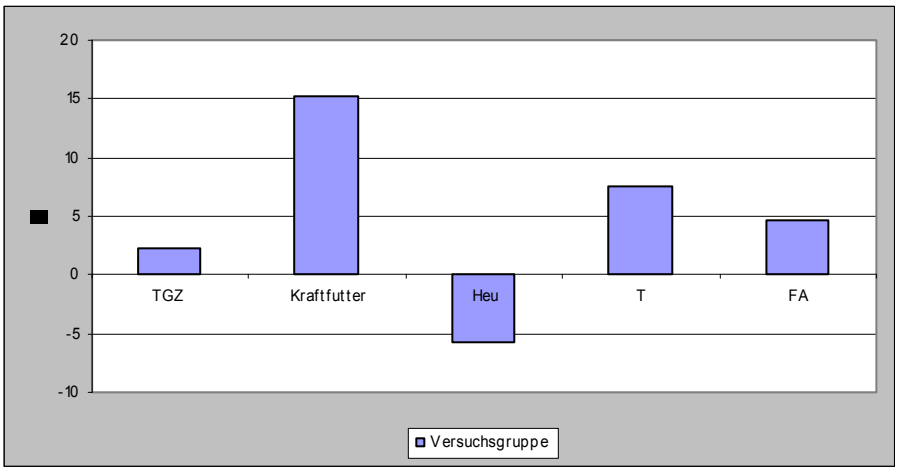
Die Ergebnisse der Rohnährstoff-Analysen der Kraftfutterchargen ergaben im Durchschnitt bei der Kontrollgruppe 90,3 % Trockenmasse, mit 21 % Rohprotein und 59 % Rohfaser. Die Chargen für die Versuchsgruppe wiesen im Mittel 90,1 % Trockenmasse, 21 % Rohprotein und 60 % Rohfaser auf. Im Kraftfutter der Versuchsgruppe wurde im Mittel 17,9 mg/kg der Leitsubstanz des phytobiotischen Zusatzes Carvacrol nachgewiesen, in der Kontrollgruppe konnte die Leitsubstanz, wie zu erwarten, nicht gefunden werden. Die analysierten Werte der Kraftfuttermischungen entsprachen somit weitestgehend den kalkulierten Werten. Ebenso zeigten die Analysen des Milchaustauschers und des Heus die zu erwartenden Werte.

Über das gesamte Experiment hinweg wiesen die Tiere mit durchschnittlich 724 g täglichen Zunahmen eine normale Entwicklung auf. Die Kontrollgruppe erzielte im Durchschnitt über die gesamte Versuchsdauer Tageszunahmen von 715 g und die Versuchsgruppe 732 g. Insgesamt lagen die täglichen Zunahmen der Versuchsgruppe mit dem phytobiotischen Futterzusatz um 2,3 % über dem Kontrollniveau (Abbildung 2). Dieses Ergebnis konnte jedoch statistisch nicht abgesichert werden.

Über den gesamten Versuch nahmen die Tiere im Mittel 20,5 kg Milchaustauscher auf. Entsprechend des nach Rationsliste (Abbildung 1) limitierten Angebots zeigten sich zwischen den beiden Futtergruppen keine Unterschiede.

Über den gesamten Zeitraum betrug die Kraftfutteraufnahme der Versuchsgruppe um 15,2 % (59,7 kg pro Tier) mehr als jene der Kontrollgruppe (50,6 kg pro Tier; Abbildung 2). Dies konnte allerdings statistisch nicht abgesichert werden. Die höhere Heuaufnahme der Kontrollgruppe um 5,8 % (16,6 vs 15,2 kg pro Tier) zeigte ebenfalls keine statistische Signifikanz auf (Abbildung 2).

In der Größe Trockenmasseaufnahme wurde die Kraftfutter- Heu- und Milchaustauscheraufnahme zusammengefasst. Über den gesamten Versuchsverlauf betrug die Trockenmasseaufnahme der Versuchsgruppe um 7,5 % (123 vs 114 kg pro Tier) mehr als jene der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied lässt sich statistisch nicht absichern.



TGZ: Tageszunahmen
KF: Kraftfutteraufnahme
TM: Trockenmasseaufnahme gesamt
FA: Futteraufwand

Abbildung2: Leistungsdaten über die gesamte Versuchsdauer, wobei die Ergebnisse der Kontrollgruppe 0 % darstellen

Es kann weiters festgehalten werden, dass sich im Merkmal Futteraufwand und in der Kotkonsistenz über den gesamten Versuchszeitraum keine Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten. Im

Gesamtmittel hatten die Kälber der Kontrollgruppe einen Futteraufwand von 2,30 kg Futter je kg Zuwachs und jene der Versuchsgruppe 2,41 kg Futter je kg Zuwachs.

Diskussion

Es ist festzustellen, dass die Kälber sehr gute Leistungen erzielten. JEROCH ET AL. (1999, S. 396) geht im Alter von einem Monat von durchschnittlichen Tageszunahmen von 600 g und im zweiten und dritten Lebensmonat von 700 g aus. Im vorliegenden Versuch erzielten die Kälber der Kontrollgruppe im Durchschnitt der 2. bis 11. Lebenswoche Zunahmen von 716 g und jene der Versuchsgruppe von 732 g. Wie in Abbildung 2 ersichtlich, lag die Tageszunahme der Versuchsgruppe zwar um 2,3 % höher als die der Kontrollgruppe, allerdings konnte über die gesamte Versuchsdauer keine signifikante Differenz festgestellt werden. Auch RAGALLER (2006) beobachtete bei ihrem Versuch keine statistisch relevanten Unterschiede in der Gewichtsentwicklung der Kälber. WALD (2002) konnte bei ihren Versuchen mit Ferkeln und Broilern ebenfalls keinen leistungssteigernden Effekt erzielen. LEE ET AL (2004) berichten von einem Broilerversuch, in dem der Einsatz von Carvacrol ebenfalls keine Leistungssteigerung nach sich zog und vermuteten, dass die antimikrobielle Wirkung der ätherischen Öle nicht zum Tragen kommt, wenn die Broiler in einer sauberen Umgebung gehalten und ausgewogen gefüttert werden.

Im vorliegenden Versuch nahmen die Kälber der Versuchsgruppe um 15,2 % mehr Kraftfutter auf als die Kontrollgruppe. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen von RAGALLER (2006), die in ihrem Versuch ebenfalls von keinem signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen berichtet. Ein Grund für die höhere Futteraufnahme der Versuchsgruppe könnte eine, durch den pytobiotischen Zusatz ausgelöste, erhöhte Speichelproduktion sein. Wie RAO ET AL. (2003) bei in vitro Versuchen an Ratten zeigte, produzierte der Pankreas beim Kontakt mit Gewürzen und Pflanzenextrakten signifikant mehr Lipase und Amylase.

Beim Aspekt der Heuaufnahme lag die Versuchsgruppe um 5,5 % unter der Kontrollgruppe. Ein Grund dafür dürfte die erwähnte höhere Kraftfutteraufnahme der Versuchsgruppe sein, wodurch die Kälber bereits früher ein Sättigungsgefühl erreichen und weniger Heu aufnehmen.

Die tägliche Beurteilung der Kotkonsistenz zeigte keinen Unterschied in der Durchfallhäufigkeit zwischen den Gruppen. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen von MUHL (2006), die bei ihrem Versuch mit phytogenen Zusatzstoffen keine signifikanten Effekte auf die Durchfallhäufigkeit bei Ferkeln nach dem Absetzen feststellen konnte.

Literaturverzeichnis

Jeroch, H.; Drochner, W.; Ortwin, S. (1999): Ernährung landwirtschaftlicher

Nutztiere. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.

Jugl, M.; Zitterl-Eglseer, K.; Beier, T.; Schlicher, F.; Gabler, C.; schuh, M.; Kastner, U.; Guggenbichler, J. P.; Franz, C. (2001): Experimentelle Feldstudie über den Einsatz von Karottenpektinen als Futterzusatz zur Durchfallprophylaxe in der Ferkelaufzucht. Tierarzl. Prax. 29 (G), 308-312.

Muhl, annabell (2006): Ernährungsphysiologische Bewertung alternativer Futterzusatzstoffe bei Absetzferkeln und wachsenden Broilern. Dissertation, Universität Göttingen.

Ragaller, V. (2006): Einfluss eines phytogenen Futterzusatzstoffes auf die Entwicklung von Aufzuchtkälbern. Diplomarbeit, Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.

Rao, R. r.; Platel, K.; Srinivasan, K.; (2003): In vitro influence of spices and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. Food 47: 408-412.

Wald, C. (2002): Untersuchungen zur Wirksamkeit verschiedener ätherischer Öle im Futter von Aufzuchtferkeln und Broilern. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Autorenanschrift

Dr. Christian Plitzner
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Strasse 33, A-1180 Wien
E-mail: christian.plitzner@boku.ac.at

Carcass and digestive effects of Xtract and avilamycin on broiler in Mediterraneen conditions

Laurence Mazuranok[1], David Bravo[1]

[1] Pancosma, France

Abstract

In Europe, there has been no more antibiotic growth promoters since the 1st January 2006. Other countries as Tunisia are evolving in the same way. The Tunisian legislation prohibited AGP since the 1st January 2007 without any concrete solutions to this withdrawal. Not only performance but also carcass parameters are of interest. Some of the organ measurements can emphasize the digestive mechanism of the additives. In a maize and soya based diet, there were 3 treatments: a negative control (C), avilamycin (AV) and a combination of 5% carvacrol, 3% cinnamaldehyde and 2 % Capsicum oleoresin (XT) 100 g/t. To measure such digestive influences, there was the setting up of a broiler trial for a 42-day period. Different parameters were measured: the hot and the cold carcass yields, the percentage of digestive tract, liver and abdominal fat. XT statistically increased the hot and cold carcass yields in comparison to negative control (74.36% vs. 72.92%, P<0.009; 74.13% vs. 72.72%, P<0.006 respectively) and improved only numerically these 2 parameters compared to AV (74.36% vs. 73.35%, P<0.06; 74.13% vs. 72.72%, P<0.07 respectively). AV increased these 2 parameters versus C (73.35% vs. 72.92%; 73.21% vs. 72.72% respectively). Concerning the fat yield, there was no influence of the treatment (C 1.54%, AV 1.68%, XT 1.81%). For the liver percentage, there was also no statistical differences (C 1.88%, AV 1.84%, XT 1.96%). The digestive tract percentage was statistically improved by XT vs. C (6.51% vs. 7.69%, P<0.0004) and vs. AV (6.51% vs. 7.34%, P<0.009). AV decreased numerically this parameter in comparison to C (7.34% vs. 7.69%). To conclude, in Tunisian conditions, in maize and soya based diet, hot and cold carcass were improved by AV and XT vs. C. Liver and fat percentage seemed not to differ between treatments and are included in the standard physiological levels. The most interesting is the influence on digestive tract percentage. This parameter can indicate a way to performance. The gastro-intestinal (GI) tract weight percentage can be an indicator of GI surface. So, as XT and AV decreased GI tract weight percentage, it seems that this surface was also decreased. But, AV didn't decrease as dratiscally this surface as XT. This 2 treatments should have different mechanisms. For instance, XT seemed to increase the diet digestibility, the nutrient availability and/or the nutrient absorption in the digestive tract. To promote performance, a solution can be to optimize the digestive tract nutrition.

Introduction

In Europe, since the 1st January 2006, antibiotics as growth promoters were prohibited for safety reasons. Other countries as Mediterranean countries, decided to extend this legislation to their local environment and decided this withdrawal the 1st January 2007 but with a transition period until June 2007.

In such conditions, they had to screen different additives in their local context. Different additives were already explored for their ability to maintain performance, health status, carcass quality and digestive influences in different countries as in the US (Dickens et al., 2000)… For instance, a combination of 5 % carvacrol, 3 % cinnamaldehyde and 2 % Capsicum oleoresin (XT) could be a possible alternative.

The aim of the present study was to evaluate the carcass parameters and digestive impact of XT versus a negative control and also a positive control avilamycin.

Material and methods

Diets

All the diets were formulated and prepared following isonutritive requirements. The diet composition is described in the following table:

Chickens and housing

600 chickens used were male Arbor Acres obtained as day-old chicks from a local hatchery. They were vaccinated at the hatchery against IBV. At their arrival, defined as day 0 of the experiment, the chicks were wing-banded and allocated to 12 pens randomly on an individual weight basis. The initial mean body weight was 43 ± 0.26 g. 36 broiler chickens were dedicated to the present study on carcass and digestive parameters.

The diet was distributed in a poultry feeder placed in the center of each pen. Water was distributed ad libitum.

The experiment period lasted 42 days.

Experimental treatments

This experiment consisted of 3 treatments:

- a negative control group (named C) with the standard diets presented in table 1,
- an avilamycin group (named AV) corresponded to the C group diets completed with avilamycin 10 g/t of feed,
- a plant extract group (named XT) corresponded to C group diets completed with Xtract 6930 at 100 g/t of feed.

Table 1: Diet composition

Ingredients	Starter diet	Grower diet	Finisher diet
Maize (%)	58	67	67
Soyabean (%)	38	29	29
Vitamin supplement (%)	4	4	4
Dry matter (%)	87.3840	85.7483	85.7483
Proteins (% DM)	20.2701	17.9269	17.9269
Cellulose (% MS)	3.3864	3.2344	3.2344
Fat matter (% MS)	4.2210	6.2153	6.2153
Lysine	1.2803	1.0815	1.0815
Methionine	0.5400	0.5210	0.5210
Met+Cys	0.9300	0.8600	0.8600
Threonine	0.7224	0.7284	0.7284
Tryptophane	0.2575	0.2245	0.2245
Starch	36.1330	40.9090	40.9090
Linoleic acid	2.0152	1.8282	1.8282
Calcium	0.9912	0.9882	0.9882
Available phosphorus	0.3992	0.3745	0.3745
Total phosphorus	0.6811	0.6457	0.6457
Cl	0.2129	0.2137	0.2137
Na	0.1616	0.1604	0.1604
K	0.9095	0.8410	0.8410

Measurements

To evaluate the carcass parameters and digestive impacts of the 3 treatments, different measurements were realised at 42 days:

- Hot carcass weight,
- Cold carcass weight
- Liver weight,
- Abdominal fat weight,
- Digestive tract weight

In order to compare each treatment, the calculation of yields and ratios were made on a live weight basis:

- Hot carcass yield: the ratio of carcass weight to live weight,
- Cold carcass yield: the ratio between eviscerated cold carcass to live weight,
- Abdominal Fat yield,
- Liver weight ratio,
- Digestive tract weight ratio.

Statistical analysis

Data were examined using the General Linear Models Procedure of SAS 9.1 (SAS Institute, 2003). The following model was chosen: $Y = \mu + T + \varepsilon$ with Y corresponding to the parameters measured as hot carcass yield…, μ is the mean of each measured parameter, T is the treatment and ε the error.

Significant differences amoung treatments were determined using a t-test.

Results and discussion

The results are presented in table 2.

Table 1: Carcass parameters

	Negative control	Avilamycin	XT	SE	P
Hot carcass yield (%)	72.92b	73.35ab	74.36a	0.229	0.03
Cold carcass yield (%)	72.72b	73.21ab	74.13a	0.217	0.02
Abdominal fat yield (%)	1.54	1.68	1.81	0.062	NS
Liver ratio (%)	1.88	1.84	1.96	0.043	NS
Digestive tract ratio (%)	7.69A	7.34A	6.51B	0.145	0.002

a, b: Values with a different superscript in the same row differ at $P<0.05$

A, B: Values with a different superscript in the same row differ at $P<0.01$ and less

XT statistically increased the hot and cold carcass yields in comparison to negative control (74.36% vs. 72.92%, P<0.009; 74.13% vs. 72.72%, P<0.006 respectively) and improved only numerically these 2 parameters compared to AV (74.36% vs. 73.35%, P<0.06; 74.13% vs. 72.72%, P<0.07 respectively). AV increased these 2 parameters versus C (73.35% vs. 72.92%; 73.21% vs. 72.72% respectively). So the present results confirmed previous data obtained in Europe with *Ross 308* (Gutierrez O et al., 2005; Jamroz D et al., 2002; Jamroz D and Kamel C, 2002). There was no specific correlation between genetics and additives as XT or AV.

Concerning the abdominal fat yield, there was no statistical influence of the different treatments. However, there was a numerical increase of 0.14 point of the abdominal fat percentage in AV compared to C (C 1.54%, AV 1.68%). XT also increased the abdominal fat percentage of 0.27 point (C 1.54% vs. XT 1.81%). As a consequence, the fat metabolism seemed to increase in both additives (AV and XT) even if it is not statistical.

For the liver percentage, there was also no statistical differences (C 1.88%, AV 1.84%, XT 1.96%). Based on physiological standards, the liver percentage seemed to be lower than standards (around 4%). It seemed that it can be of genetic influence (Zhou et al., 2006).

The digestive tract percentage was statistically improved by XT vs. C (6.51% vs. 7.69%, P<0.0004) and vs. AV (6.51% vs. 7.34%, P<0.009). AV decreased numerically but slightly this parameter in comparison to C (7.34% vs. 7.69%). This gastrointestinal (GI) tract percentage can be an indicator of the GI surface. As XT and AV decreased GI tract weight percentage, it seems that this surface was also decreased. But, AV didn't decrease as dratiscally this surface as XT. This 2 treatments should have different mechanisms. For instance, AV seemed to optimise the digestion based on anti-inflammatory effects (Niewold, 2007). So, more nutrients are available for growth and not for inflammatory purposes. It could explained partly the slight decrease of digestive tract percentage in AV group compared to negative cotnrol. XT seemed to increase the diet digestibility, the nutrient availability and/or the nutrient absorption in the digestive tract (Jamroz D et al., 2002; Jamroz D and Houszka M, 2003). To fulfill growth needs, the broilers in XT group didn’t need to increase GI tract as in C group.

To conclude, these results are in accordance with the other European trials. In Tunisian conditions, in maize and soya based diet, hot and cold carcass were improved by AV and XT vs. C. Liver and fat percentage seemed not to differ between treatments and are included in the standard physiological levels. The most interesting is the influence on digestive tract percentage. This parameter can indicate a way to perform. To promote performance, a solution can be to optimize the digestive tract nutrition.

References

Dickens, J. A., M. E. Berrang, and N. A. Cox. 2000. Efficacy of an herbal extract on the microbiological quality of broiler carcasses during a simulated chill. Poult Sci 79:1200-1203.

Gutierrez O, Haq A, Corley J, Kamel C, and Bailey C. Evaluation of XTRACT on broiler performance and carcass yields when used in corn/soybean meal diets. 46[1], 52. 2005. Poultry Science Association Annual Meeting - The Aubrun University and Dixon Conference Center, Auburn University, AL - 31/07 - 03/08/2005. 31-7-2005.

Jamroz D and Houszka M. Influence of plant extract on the morphological and histochemical patterns of digestive tract wall in chickens. 12, 71. 2003. Proceedings of the society of nutrition physiology.

Jamroz D and Kamel C. Plant extracts enhance broiler performance. Journal of Animal Science 80[suppl 1], 41. 2002.

Jamroz D, Orda J, Kamel C, Wertelecki T, and Skorupinska J. Influence of phytogenic extracts on performance, digestibility and gut microbial status in broiler chickens. 105. 2002. 2002 11th European Poultry Conference - Abstract - Bremen. 2002.

Niewold, T. A. 2007. The Nonantibiotic Anti-Inflammatory Effect of Antimicrobial Growth Promoters, the Real Mode of Action? A Hypothesis. Poult. Sci 86:605-609.

Zhou, H., N. Deeb, C. M. Evock-Clover, C. M. Ashwell, and S. J. Lamont. 2006. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. II. Body composition. Poult Sci 85:1712-1721.

Contact adress

Pancosma
ZI Arlod
2 rue des Frères Lumière
01200 Bellegarde-sur-Valserine
France
e-mail contact: Laurence.Mazuranok@pancosma.ch

The effect of the phytogenic product BIOSTRONG® *510* and phytase on growth performance and nutrient digestibility in broiler chicken

A. Asamer[1], J. Perner[1], T.C. Loh[2]

[1] Delacon Biotechnik GmbH, Weissenwolffstr. 14, A-4221 Steyregg, Austria;
[2] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

Introduction

Poultry diets are mainly consisting of corn and soybean; components, which contain considerable amounts of phytate (Reddy et al., 1982). Availability of phytate phosphorus in poultry is very limited, due to the lack of sufficient endogenous phytase production by the animals (Cromwell, 1989). Accordingly, broiler diets are supplemented with inorganic phosphorus, such as dicalcium phosphate, in order to meet the requirements of growing chicken. Phosphate addition not only increases feed costs but also causes pollution of environment with unabsorbed phosphorus (Nahashon et al., 1994). Microbial phytase is therefore commonly used in feed industry in order to utilise phytate bound phosphorus in plant feedstuffs (Simons et al., 1990).

Phytogenic (=plant based) feed additives contain a variety of active substances such as essential oils, flavonoids and saponins. Some of these substances were shown to increase secretion of endogenous amylase and protease (Platel and Srinivasan, 200). The increase in enzyme secretion can improve digestibility and availability of nutrients from feedstuffs (Wang et al., 1998). Phytogenic additives are therefore used in broiler diets to increase nutrient digestibility and growth performance. There is evidence that phytogenic feed additives might exert positive effects also on phosphorus digestion. However, effects of phytogenic products in combination with microbial phytase on digestibility of nutrients have been not been studied yet.

The objective of the present study was to evaluate the effects of a phytogenic feed additive and microbial phytase in broiler diets on growth performance and nutrient digestibility.

Materials and Methods

A total of 280 male Ross broiler chicken were randomly assigned to five treatment groups at day one of age. Chicken were kept in cages of eight broilers in an open house at temperatures between 32°C and 28°C. All birds were wing banded and vaccinated against Newcastle and Infectious Bronchitis disease.

Chicken were fed on a basal starter feed (control) or the basal diet supplement with either phytase (100% phytase matrix; PM) or Biostrong® 510 (100% matrix of Biostrong® 510; BM) or phytase (100% matrix) plus Biostrong® 510 (without matrix; PMB) or phytase (100% matrix) plus Biostrong® 510 (Ca, and P matrix; PMBM). Feed was formulated to contain equal amounts of phosphorus,

considering the matrix values of the feed additives (Table 1). Titanium dioxide was used as inert marker for calculation of ileal nutrient digestibility (Brandt and Allan, 1987).

Table 1: Feed compositions of experimental diets

Ingredients	Control	PM	BM	PMB	PMBM
Corn	49.90	49.60	51.70	49.60	49.40
DL-Methionine	0.180	0.185	0.185	0.185	0.184
Limestone powder	0.67	1.03	0.84	1.015	1.17
Palm oil	5.96	5.15	5.14	5.15	5.12
DCP 20%P	2.30	1.45	1.82	1.45	0.97
Salt	0.04	0.045	0.045	0.045	0.044
Sodium bicarb	0.49	0.49	0.485	0.49	0.48
Soybean meal 44%	40.10	38.60	38.13	38.60	38.42
Wheat pollard	0	3.08	1.28	3.08	3.827
Condition ADE 200 HPC	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Multivitamin	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Multimineral	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Diclazuril 0.5%	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Natuphos® 5000	-	0.01	-	0.01	0.01
Biostrong® 510 (full matrix)	-	-	0.015	-	-
Biostrong® 510 (Ca+P matrix)	-	-	-	-	0.015
Biostrong® 510 (No matrix)	-	-	-	0.015	
Calculated nutrients (%)					
ME, kcal/kg	3130.14	3129.11	3129.62	3129.11	3129.76
Crude protein	22.01	21.99	22.01	21.99	22.01
Calcium	1	1	1	1	1
Phosphorus	0.85	0.81	0.76	0.81	0.79
Available phosphorus	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Lysine	1.19	1.18	1.18	1.18	1.18
Methionine	0.5	0.51	0.52	0.51	0.51

Feed and water were *ad libitum* available. Feed consumption (per cage) and body weight (individually) were recorded weekly and feed conversion was calculated.

All birds were sacrificed after 21 days in experiment and ileal digesta was collected. Feed and digesta samples were analysed for dry matter, crude protein, and phosphorus and calcium (AOAC, 1984). The phosphorus and calcium concentrations were determined by atomic absorption spectrophotometer.

The data was analysed by one-way analysis of variance (SAS for Windows, 1998). Duncan Multiple Range Test was used to compare the differences of means ($P<0.05$).

Results and Discussion

Dietary protein and calcium content was similar in all treatment groups, while the total phosphorus content differed according to the applied matrix value of the feed additives (Table 2).

There were significant treatment effects on growth performance of broiler chicken (Table 3). Chicken fed on diets supplemented with Biostrong® (BM) or the combination of Biostrong® and phytase (PB, PBM) had a significantly higher final body weight than control chicken. Addition of dietary phytase alone increased final bodyweight, but improvement was not significant. Simons et al. (1990) reported better growth performance in birds fed on diets phytase supplemented diets compared with control birds.

Cumulative weight gain and daily gain showed similar treatment differences. Highest weight gain and final bodyweight was achieved with the diet containing phytase and Biostrong® without matrix application. Birds of these groups were 5% heavier than control birds at the end of the experiment and had 6% higher daily gain.

Feed intake and feed conversion were not significantly influenced by the addition of phytase and / or Biostrong®, which is in agreement with Simons et al. (1990) and Sebastian et al. (1996). Feed conversion however, up to 4% better in the supplemented groups.

Table 2: Analysed nutrients in experimental diets

Ingredients	Control	PM	BM	PMB	PMBM
Analysed nutrients (%)					
Dry matter	88.29	88.33	88.29	88.30	88.31
Crude protein	21.40	21.34	21.45	21.76	21.19
Calcium	0.91	0.90	0.90	0.92	0.90
Phosphorus	0.82	0.67	0.73	0.68	0.57

Table 3: Growth performance of broilers chicken during 21 days in experiment

	Control	PM	BM	PMB	PMBM
Initial body weight, g	39.5±2.94[a]	39.4±3.20[a]	40.0±3.40[a]	39.5±2.86[a]	39.8±2.42[a]
Final body weight g	617±55.3[b]	633±57.5[ab]	641±65.4[a]	650±54.0[a]	645±39.5[a]
Cumulative weight gain, g	577±54.2[b]	593±56.8[ab]	601±64.0[a]	611±53.4[a]	605±39.5[a]
Growth rate, g/day	27.5±2.58[b]	28.3±2.70[ab]	28.6±3.05[a]	29.1±2.54[a]	28.8±1.88[a]
Cumulative feed intake, g	788±70.0[a]	777±54.1[a]	803±29.0[a]	799±31.6[a]	793±36.0[a]
Daily feed intake, g/day	37.5±3.33[a]	37.0±2.57[a]	38.2±1.38[a]	38.1±1.51[a]	37.7±1.72[a]
Feed conversion ratio	1.37±0.14[a]	1.31±0.08[a]	1.34±0.08[a]	1.31±0.06[a]	1.31±0.06[a]

Table 4: Ileal digestibility of nutrients

	Control	T1	T2	T3	T4
Dry matter	76.6±1.17[c]	78.7±0.62[b]	79.0±2.07[b]	81.2±0.50[a]	80.1±0.70[a]
Crude protein	56.0±8.82[b]	72.5±4.32[a]	72.6±7.59[a]	76.6±5.97[a]	75.6±5.72[a]
Phosphorus	26.4±12.9[c]	39.0±8.25[b]	36.3±11.9[b]	49.8±8.92[a]	51.5±7.28[a]
Calcium	28.5±9.45[c]	42.2±7.57[b]	38.9±11.3[b]	57.9±5.41[a]	59.0±6.87[a]

Better feed conversion in the supplemented groups was probably the result of better nutrient digestibility. Dry matter, protein, phosphorus and calcium digestibility was significantly improved by the addition of the feed additives (Table 4). It is known from former studies that dietary phosphorus availability can be increased up to 65% in three-week old broiler chicken by supplementation of diets with phytase. The improvement in protein digestibility by phytase supplementation is also in agreement with former studies Farrell et al., 1993; Van der Klis and Versteegn, 1991)

The combination of phytase and Biostrong® showed significant cumulative effects over the individual application of the additives on dry matter, calcium and phosphorus digestibility. This indicates that the phytogenic substances in Biostrong® might increase retention of calcium and phosphorus. Protein digestibility was numerically improved by the combination of the additives compared with individual application.

Conclusions

Broiler chicken fed on diets supplemented with the phytogenic feed additive Biostrong® 510 and phytase had significantly better weight gain and slightly improved feed conversion. This might be attributed to better digestibility of nutrients such as crude protein, phosphorus and calcium. Combinations of the phytogenic additive and phytase show the potential for synergistic effects on growth performance and ileal nutrient digestibility in growing broiler chicken.

References

AOAC, 1984. Official Mehtods of Analysis (13th Ed.) Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

Brandt, M. and Allan, S.-M. (1987) Analytik von TiO2 im Darminhalt und Kot nach Kjehldahl Aufschluß. Arch. Anim. Nutr. 37: 453-454.

Cromwell, G.L. (1989) Requirements, biological availability of calcium, phosphorus for swine evaluated. Feedstuff 60: 16

Farrell, D. J., Martin, E., du Preez, J., Bongarts, M. and Betts, M., Sudaman, A. and Thomson, E. (1993) The beneficial effects of a microbial feed phytase in diets of broiler chickens and ducklings. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 69: 620-623.

Nahashon, S.N., Nakaue, H.S. and Mirosh, L.W. (1994). Phytase activity, phosphorus and calcium retention, and performance of single comb White Leghorn layers fed diets containing two levels of available phosphorus and supplemented with direct fed microbials. Poultry Science 73: 1552-1562

Reddy, N.R., Sathe, S.K. and Salunkhe, T.K. (1982) Phytates in legumes cereals. In Advances in Food Research. pp 1-91.

Platel, K. and Srinivasan, K. (1996) Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestine mucosa in rats. Int. J. Food Sciences and Nutrition 47: 55-59

SAS Institute (1998) SAS® Users Guide: Statistic. SAS Institute Inc. Cary, NC.

Sebastian, S., Touchburn, S. P., Chavez, E. R. and Lague, P.C. (1996) The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper and zinc in broiler chickens fed a corn-soybean diets. Poultry Science. 75: 729-736.

Simons, P. C. M., Versteegh, A.J. Jongbloed, A.W., Kemme, P. A., Slump, P., Bos, K.D., Wolters, M.G. E., Beudeker, R. F. and Verschoor, G.J. (1990) Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. British Journal of Nutrition 64: 525-540

Van der Klis, J. D. and Versteegh, H. A. J. (1991). Ileal absorption of phosphorus in lightweight white laying hens using microbial phytase and various calcium contents in laying hen feed, Spelderholt publication No. 563, Spelderholt, Beekbergen, The Netherlands.

Wang, R., Li, D. and Bourne, S. (1998) Can 2000 years of herbal medicine history help us solve problems in year 2000? In Biotechnology in the Feed Industry Proceedings of Alltech 14th Annual Symposium (ed. T.P.Lyons and K.A. Jacques). Nottingham University Press, Nottingham.

Autorenanschrift

Mag. Andreas Asamer MBA
Delacon Biotechnik GmbH
Weissenwolffstr. 14
A-4221 Steyregg, Austria

The phytogenic solution for profitable poultry fattening.

- Improved nutrient retention
- Less ammonia excretion
- Microencapsulated active substances
- Production in accordance to ISO 9001:2000 and FAMI-QS

The phytogenic solution for profitable pig fattening with substantial reduction of environmental emissions.

- Improved nitrogen and phosphorus retention
- Less ammonia excretion, more homogenous slurry
- Microencapsulated active substances
- Production in accordance to ISO 9001:2000 and FAMI-QS

DELACON
Phytogenic Feed Additives

Delacon Biotechnik Ges.m.b.H., Weissenwolffstr. 14, A-4221 Steyregg, Austria Tel +43-732-640 531-0, Fax +43-732-640 533, office@delacon.com, www.delacon.com

Effekt von Oregano (*O. majorana* x *O. vulgare)* auf Leistung und antioxidative Kapazität von Wachteln

S. Handl[1], P. Hellweg[4], A. Khol-Parisini[4], B. Rossmann[2], K. Thurner,[2] W. Luf[2], J. Novak[3], J. Zentek[1,4]

[1] Institut für Ernährung, Department für öffentliches Gesundheitswesen, Veterinärmedizinische Universität Wien
[2] Institut für Milchhygiene, Milchtechnologie und Lebensmittelwissenschaft, Department für öffentliches Gesundheitswesen, Veterinärmedizinische Universität Wien
[3] Institut für angewandte Botanik und Pharmakognosie, Department für öffentliches Gesundheitswesen, Veterinärmedizinische Universität Wien
[4] Institut für Tierernährung, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Einleitung

Die Konsumenten entwickeln in zunehmendem Maße eine ablehnende Haltung gegenüber künstlichen Zusatzstoffen in Lebensmitteln, wie z. B Antioxidantien. Dadurch steigt die Nachfrage nach natürlich vorkommenden antioxidativen Wirkstoffen. Oregano zeigt hohe antioxidative Aktivität (Cervato et al. 2000, Dorman et al. 2003) und kann deswegen eingesetzt werden, um die oxidative Stabilität von fetthaltigen tierischen Produkten, wie Fleisch und Eiern, zu verbessern (Bauer et al. 2001, Botsoglou et al. 2003).

Die Stabilität von Konsumeiern gegenüber oxidativem Verderb ist generell hoch (Pike und Peng 1985). Seit einigen Jahren werden Eier produziert, die reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind, welchen ein gesundheitsfördernder Effekt nachgesagt wird (Farrel 1994). Allerdings machen die ungesättigten Fettsäuren diese Eier anfälliger für Oxidationsprozesse und Verderb. Cholesterin ist ein Hauptbestandteil der unverseifbaren Fettfraktion in Hühner- wie in Wachteleiern (Bragagnolo und Rodriguez-Amaya 2003). Es wir leicht von Enzymen oxidiert und unterliegt auch rasch der Autooxidation durch Wärme, Licht, Strahlung und Sauerstoff. Deswegen können die Oxidationsprodukte des Cholesterins (COPs) als Marker für den oxidativen Status von gelagerten Produkten eingesetzt werden.

Ziel dieser Studie war es, einen möglichen Effekt von Oregano auf die antioxidative Kapazität von Wachteln zu erheben, die ein Futter erhielten, das reich an ω3-Fettsäuren war. Weiters sollte untersucht werden, ob die Zufütterung von Oregano eine Auswirkung auf die Lagerungsstabilität der Wachteleier hat.

Material und Methoden

20 weibliche Legewachteln (*Coturnix coturnix japonica*) kamen für diesen Versuch zum Einsatz. Sie wurden im Alter von etwa 3 Monaten bei einem Wachtelzüchter im nördlichen Niederösterreich gekauft und am Institut für Ernährung der VUW in Tiefstreubuchten in klimatisierten Räumen gehalten. Alle Wachteln erhielten ein Futter entsprechend dem Bedarf von Lagewachteln ohne Antioxidantien und mit einem erhöhten Gehalt an ω3 Fettsäuren durch Zugabe von 4 % Leinöl. Die Zusammensetzung des Futters ist in Tabelle 1 ersichtlich. Futter und Wasser standen ad libitum zur Verfügung. Die Wachteln wurden in zwei Gruppen geteilt. Eine Gruppe erhielt den Oregano (die F_2 Generation einer Kreuzung von *O. majorana* und *O. vulgare*, gezüchtet im Gewächshaus des Instituts für angewandte Botanik der VUW), die andere Grünmehl als Kontrolle (jeweils 2 %). Die Oreganoblätter waren im Schatten getrocknet worden und wurden gemahlen und gefroren gelagert. Das Futter wurde alle vier Tage frisch gemischt und bis zum Verfüttern kühl und dunkel gelagert.

Nach einer Eingewöhnungszeit von zwei Wochen wurden eine Woche lang täglich die Eier gesammelt. Der Gesundheitszustand der Tiere, die Futteraufnahme und die Legeleistung wurden täglich erhoben, die Körpermasse der Tiere und das Gewicht der Eier wöchentlich. Am Ende des Versuchs wurden die Tiere geschlachtet und Blut und die Lebern entnommen.

Die COPs wurden in den frischen Eiern, in gelagerten Eiern (drei Wochen bei Raumtemperatur) und in den Wachtellebern mittels HPLC-MS gemessen (Razzazi-Fazeli et al. 2000). Die „Trolox equivalent antioxidative capacity" (TEAC) des Plasmas wurde wie bei Miller et al. (1996) gemessen.

Zum statistischen Vergleich der beiden Gruppen wurde Student's T-test eingesetzt. Eine Überschreitungswahrscheinlichkeit $p \leq 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

Ergebnisse

Die Wachteln nahmen die Futtermischungen gut an. Körpergewicht, Futteraufnahme und Legeleistung blieben unbeeinflusst (siehe Tab. 2).

Die Ergebnisse der Messungen der COPs in den Eiern und Lebern sowie des TEAC im Plasma sind in Tabelle 3 dargestellt. Der Gehalt an COPs in den Eiern der Oregano-Gruppe war niedriger als in der Kontrollgruppe, wenngleich der Unterschied statistisch nicht signifikant war. Die dreiwöchige Lagerung führte zu einem geringen, ebenfalls nicht signifikantem Anstieg der COPs in den Eiern beider Gruppen. Die COPs in den Lebern und die TEAC im Plasma zeigten keine signifikanten Abweichungen zwischen den Gruppen.

Tabelle 1: Zusammensetzung des Wachtelfutters (g/kg)

Komponente:	Anteil g/kg	Berechnete Zusammensetzung:	
Mais	260	Rohprotein %	21
Weizen	330	ME, MJ/kg	11,8
Sojaextraktionsschrot	150	Lysin, g/kg	9
Kartoffeleiweiß	100	Methionin, g/kg	4,5
Leinöl	40	Cystin, g/kg	3,5
Di-Kalzium-Phosphat	27	Ca, g/kg	30
Futterkalk	60	P, g/kg	9
Natriumchlorid	19,5	Mg, g/kg	1
Lysin	1,5	Na, g/kg	1
Methionin	2	Vit A, IU/kg	4 000
Prämix	10	Vit D, IU/kg	1000

Tabelle 2: Körpermasse, Futteraufnahme und Legeleistung der Wachteln (MW ± Stabw)

Gruppe	Körpermasse g	Futteraufnahme/Tag g	Eigewicht g	Eier/Gruppe/Tag
Kontrolle	269,2 ± 49,1	29,9 ± 2,72	12,9 ± 0,35	5,1 ± 1,81
Oregano	251,3 ± 52,2	30,2 ± 7,23	13,4 ± 0,50	5,9 ± 2,55

Tabelle 3: COPs in den Lebern der Wachteln, in den frischen und gelagerten Eiern sowie TEAC im Plasma (MW ± Stabw)

Gruppe	COPs Leber (µg/g)	COPs frische Eier (µg/g)	COPs gelagerte Eier (µg/g)	TEAC Plasma (mmol/l)
Kontrolle	17,9 ± 7,3	26,1 ± 0,4	28,0 ± 1,0	0,855 ± 0,203
Oregano	20,6 ± 9,2	19,6 ± 0,5	25,2 ± 1,0	0,802 ± 0,202

COPs: Cholesterin-Oxidationsprodukte, TEAC: Trolox equivalent antioxidative capacity

Diskussion

In diesem Versuch zeigte sich kein Einfluss einer Zufütterung von Oregano auf die Leistung von Wachteln, welchen ein ω3-Fettsäuren-reiches Futter verabreicht worden war. Das Futter stand ad libitum zur Verfügung, eine Zulage von 2 % Oregano hatte keinen Effekt auf die Futteraufnahme im Vergleich zu Grünmehl. Eine höhere Dosis Oregano hätte möglicher Weise eine deutlichere antioxidative Wirkung auf das Dotterfett gehabt, da Oregano aber einen sehr ausgeprägten Geruch und Geschmack aufweist, könnte er die Futteraufnahme beeinträchtigen. Außerdem beeinflussen würzige Futterzusätzen den Geruch und Geschmack der Eier (Richter et al. 2002).

Die Wachteleier waren zwei Wochen nach Beginn der Oregano-Fütterung gesammelt worden. Krause und Ternes (1999, 2000) zeigten ein Ansteigen des Phenolgehaltes im Eidotter während der ersten 12 Tage der Zufütterung, also scheinen 14 Tage auszureichen, um einen Effekt der Oregano-Zulage erkennen zu können.

Der Gehalt an COPs in den frischen Eiern war in der Oregano-Gruppe geringfügig niedriger als in der Kontrollgruppe und stieg in beiden Gruppen während der Lagerung leicht an. Dies stimmt überein mit den Erkenntnissen von Botsoglou et al. (1997). Sie hatten Legehennen mit Thymian gefüttert (3 % im Futter) und die Fettoxidation im Dotter durch die Messung von Malonaldehyd bestimmt, in frischen Eiern und nach 60tägiger Kühllagerung. In den frischen Eiern der mit Thymian gefütterten Hennen war signifikant weniger Malonaldehyd zu finden, durch die Lagerung zeigte sich aber in beiden Gruppen keine Änderung der Fettoxidation. Die Forscher schlossen daraus, dass die antioxidativen Bestandteile des Thymians in den Eidotter übergetreten waren. Das Fett im Eidotter scheint sehr stabil gegenüber Oxidation zu sein, selbst wenn es mit ω3-Fettsäuren angereichert wurde.

Die Bioverfügbarkeit der antioxidativen Substanzen Carnosolsäure, Thymol und *p*-Cymen-2,3-diol in Eiern wurde von Krause und Ternes (1999, 2000) untersucht. Sie versetzten das Futter von Legehennen mit 0,28 bzw. 0,57 % Rosmarinextrakt (da entspricht einer Zulage von 1 bzw. 2 % Rosmarinblättern) und 1,12 bzw. 1,68 % Thymianextrakt (entsprechend einer Zulage von 10 % Thymianblättern). Der Übergang in das Ei betrug 0,0025 % für Carnosolsäure, 0,004 % für *p*-Cymen-2,3-diol und 0,006 % für Thymol. Die Bioverfügbarkeit dieser Phenole im Eidotter scheint also klein zu sein. Polyphenole werden auch für die antioxidative Wirkung von Oregano verantwortlich gemacht. Die bekannten Substanzen Kaffeesäure, Rosmarinsäure und Carvacol tragen jedoch nur zu 55 % zum Gesamtphenolgehalt von Oregano bei (Pizzale et al. 2002). Nicht alle Polyphenole konnten bisher identifiziert werden. Außerdem können auch andere Gruppen von Bestandteilen für die komplexen antioxidativen Wirkungsprozesse verantwortlich sein (Madsen et al. 1996).

Schlussfolgerungen

Es scheint möglich zu sein, den Prozess der Fettoxidation im Körper von Tieren durch die Fütterung mit antioxidativ wirksamen Kräutern zu beeinflussen. Weitere Studien sind nötig, um die wirksamen Inhaltsstoffe dieser Pflanzen zu identifizieren und um ihre Eignung als natürlich vorkommende antioxidative Futterzusätze zu untersuchen.

Literatur

Bauer, F., Siller, D., Kleineisen, S., Luf, W., Pfannhauser, W., Fenwick, G.R., Khokhar, S., 2001: The influence of feeding sage and oregano on the oxidative stability of raw belly bacon. Biologically active phytochemicals in food: analysis, metabolism, bioavailability and function. Proceedings of the EUROFOODCHEM XI Meeting, Norwich, UK, 26-28 September 2001, Norwich, UK, 26.

Botsoglou, N.A., Yannakopoulos, A.L., Fletouris, D.J., Tserveni-Goussi, A.S., Fortomaris, P.D., 1997: Effect of dietary thyme on the oxidative stability of egg yolk. J. Agr. Food Chem. 45, 3711-3716.

Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Spais, A.B., 2003: Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano supplementation. Food Res. Int. 36, 207-213.

Bragagnolo, N., Rodriguez-Amaya, D.B., 2003: Comparison of the cholesterol content of Brazilian chicken and quail eggs. J. Food Comp. Anal. 16, 147-153 .

Cervato, G., Carabelli, M., Gervasio, S., Cittera, A., Cazzola, R., Cestaio, B., 2000: Anti-oxidant properties of oregano (Origanum vulgare) leaf extracts. J. Food Biochem. 24, 453-456.

Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J., 2003: Characterisation of the antioxidant properties of de-odorised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. Food Chem. 83, 255-262.

Farrel, D.J., 1994: The fortification of hen's eggs with omega-3 long chain fatty acids and their effect on human. In: Sims, J.S., Nakai, S. (ed.), Eggs Uses and Processing Technology. CAB International, London. 386-401.

Krause, E.L., Ternes, W., 1999: Bioavailability of the antioxidative thyme compounds thymol and p-cymene-2,3-diol in eggs. Eur. Food Res. Technol. 209, 140-144.

Krause, E.L., Ternes, W., 2000: Bioavailability of the antioxidative Rosmarinus officinalis compound carnosic acid in eggs. Eur. Food Res. Technol. 210, 161-164.

Madsen, H.L., Nielsen, B.R., Bertelsen, G., Skibsted, L.H., 1996: Screening of antioxidative activity of spices. A comparison between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. Food Chem. 57, 331-337.

Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Bramley, P.M., Rice-Evans, C.A., 1996: Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. FEBS Letters 384, 240-242.

Pike, O.A., Peng, I.C., 1985: Stability of shell eggs and liquid yolk to lipid oxidation. Poultry Sci. 64, 1470-1475.

Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Überegger, E., Conte, L.S., 2002: Antioxidant activity of sage (Salvia officinalis and S. fruticosa) and oregano (Origanum onites and O. intercedens) extracts related to their phenolic compound content. J. Sci. Food Agric. 82, 1645-1651.

Razzazi-Fazeli, E., Kleineisen, S., Luf, W., 2000: Determination of cholesterol oxides in processed food using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionisation. J. Chrom. A 896, 321-334.

Richter, T., Braun, P., Fehlhaber, K., 2002: Influence of spiced feed additives on taste of hen's eggs. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 115, 200-202.

Autorenanschrift

Dr. Stefanie Handl
Institut für Ernährung
Department für öffentliches Gesundheitswesen
Veterinärmedizinische Universität Wien
Veterinärplatz 1
A-1210 Wien

Wirkung von Oregano auf die Aufzuchtleistung von Ferkeln

J. Oswald[1)] und W. Wetscherek[2)]

[1)]LFS Hatzendorf
[2)]Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Die Absetz- und Aufzuchtphase stellt für Ferkeln eine Zeit mit großen Stressbelastungen durch Futterumstellungen, Trennung vom Muttertier sowie Umstallungen dar. Um dennoch ein hohes Leistungsniveau zu sichern, wurden zur Aufrechterhaltung der Darmgesundheit über viele Jahre hindurch antimikrobielle Leistungsförderer eingesetzt. Seit dem Verbot des Einsatzes dieser Stoffe durch die europäische Kommission (1.1.2006) konzentrieren sich die Forschungsaktivitäten auf die Suche nach alternativen Substanzen und Strategien. Eine davon ist der Einsatz von „phytogenen" Zusatzstoffen, welche aus Kräutern, Gewürzen und anderen Pflanzen oder deren Pflanzenteilen bestehen oder aus ihnen durch Extraktion gewonnen werden (z.B.: ätherische Öle). Es ist bekannt, dass einige die Tiergesundheit verbessern und stabilisieren und eine antimikrobielle Aktivität besitzen, über eine Appetitanregung zu einer Steigerung der Futteraufnahme beitragen, die Verdauung durch Anregung der Speichel-, Magen- und Darmsekretion fördern.

Versuchsdurchführung

Der Versuch wurde an der LFS-Hatzendorf in zwei Durchgängen mit jeweils 48 Ferkel durchgeführt. Die Ferkel wurden mit dem 28. Lebenstag abgesetzt und auf die 2 Versuchsgruppen aufgeteilt (Tabelle 1). Bei der Aufteilung wurde auf eine gleichmäßige Verteilung von Geschlecht, Gewicht, Wurf und Sauenfütterung geachtet. Die Sauenfütterung unterschied sich durch den Zusatz von 2 g/kg Oregano im Alleinfutter für laktierende Sauen.

Die verwendeten Tiere stammten aus der eigenen Nachzucht des Betriebes. Es handelte sich dabei um F1-Kreuzungstiere der Rassen Edelschwein x Pietrain. Der Versuch begann nach der 4. Lebenswoche der Ferkel und erstreckte sich über fünf Versuchswochen. Für den Versuch standen in jedem Durchgang vier Boxen in einem vollklimatisierten Aufzuchtsabteil zur Verfügung. Die einstreulosen Boxen waren mit einem Teilspaltenboden mit einer beheizten Liegefläche ausgestattet. Beide Versuchsgruppen erhielten die gleichen handelsüblichen Absetz- bzw. Aufzuchtfuttermischungen (Tabelle 2 und 3). Die Umstellung von der Absetzfuttermischung auf die Aufzuchtfuttermischung erfolgte nach 2 Versuchswochen. Die Nährstoffzusammensetzung, Energiegehalte sowie die Gehalte an ätherischen Ölen der Futtermischungen sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

Die Lebendmasse der Ferkel wurde bei der Einstellung und im weiteren Versuchsverlauf im einwöchigen Abstand tierindividuell erfasst. Weiterhin wurden die Aufnahme an Absetz- bzw. Aufzuchtfutter für jede Versuchswoche je Box ermittelt.

Tabelle 1: Versuchsplan

Merkmal	**Sau KG – Ferkel KG**	**Sau KG – Ferkel VG**	**Sau VG – Ferkel KG**	**Sau VG – Ferkel VG**
Oregano im Sauenfutter	Nein	nein	ja	ja
Oregano im Ferkelfutter	Nein	ja	nein	Ja
Durchgänge, n	2	2	2	2
Boxen, n	2	2	2	2
Ferkel / Box	6	6	6	6
Ferkel, n	24	24	24	24

Tabelle 2: Zusammensetzung der Absetzfuttermischungen

Futtermittel	**Kontrollgruppe (KG)**	**Versuchsgruppe (VG)**
Gerste, %	20,55	20,35
Weizen, %	33,50	33,50
Sojaextraktionsschrot - 48, %	20,00	20,00
Kartoffeleiweiß, %	6,00	6,00
Molkenfettkonzentrat, %	5,00	5,00
Bierhefe, %	2,80	2,80
Rapsöl, %	4,00	4,00
Dicalciumphosphat, %	0,50	0,50
Viehsalz, %	0,20	0,20
L-Lysin, %	0,40	0,40
DL-Methionin, %	0,05	0,05
Dextrose, %	4,00	4,00
Mineral- und Vitaminmix, %	3,00	3,00
Oregano, %	**--**	**0,20**

Tabelle 3: Zusammensetzung der Aufzuchtfuttermischungen

Futtermittel	**Kontrollgruppe (KG)**	**Versuchsgruppe (VG)**
Gerste, %	39,90	39,70
Weizen, %	20,33	20,33
Sojaextraktionsschrot - 48, %	15,67	15,67
Mais, %	10,17	10,17
Provilacta, %	4,00	4,00
Rapsöl, %	2,53	2,53
Sonnenblumenextraktionsschrot, %	2,00	2,00
Weizenkleie, %	1,67	1,67
Calciumcarbonat, %	1,33	1,33
Monocalciumphosphat, %	0,87	0,87
Viehsalz, %	0,33	0,33
L-Lysin, %	0,50	0,50
DL-Threonin, %	0,13	0,13
Spuren- und Vitaminmix, %	0,57	0,57
Oregano, %	**--**	**0,20**

Alle Futtermischungen wurden in jedem Durchgang beprobt und auf Trockenmasse, Rohasche, Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Stärke und Zucker nach den Standardmethoden der VDLUFA (NAUMANN und BASSLER, 1997) untersucht. Der ME-Gehalt der Futtermischungen wurde nach der Schätzformel für Alleinfutter (KIRCHGESSNER, 2004) berechnet.

Die Quantifizierung der ätherischen Ölkomponenten in den Futtermitteln erfolgte mittels GC/MS nach einer Festphasenmikroextraktion (SPME). Dafür wurde 1,00 g Futter mit 2,0 ml Dichlormethan versetzt und 15 min. im Ultraschallwasserbad extrahiert. Das Extrakt wurde mit einem internen Standard (o-Cresol) versehen und gaschromatographisch bestimmt.

Die Analyse erfolgte mit einem Gaschromatographiegerät (HP 6890) mit massenselektivem Detektor (HP 5972) an einer 30 m x 0,25 mm Kapillarsäule (Restek Corporation, Bellefonte, PA, USA) bei einem Splitverhältnis von 1:1, einer Einlasstemperatur von 250 °C mit einem Injektionsvolumen von 1 µl. Die Starttemperatur von 60°C wurde für 5 min. gehalten, dann wurde mit einer Aufheizrate von 4°C pro min. auf 120°C und weiter mit 20°C pro min. auf 240°C aufgeheizt. Die Nachheizphase bei 300°C dauerte 5 min. Unter diesen Bedingungen eluierten Thymol nach ca. 19 min. und Carvacrol nach ca. 20 min.

Eichkurven: Bei den Futterproben wurden Eichkurven für Carvacrol und Thymol erstellt. Dafür wurden 40,00 mg Substanz in 2 ml Methanol gelöst und mit Aqua dest. auf 100,0 ml aufgefüllt. Aus dieser Stammlösung wurden Verdünnungen von 1:50 bis 1:800 erstellt.

Versuchsergebnisse

Wie in der Tabelle 4 dargestellt, unterschieden sich die Absetz- und Aufzuchtfuttermischungen für die beiden Gruppen in ihrer Nährstoffzusammensetzung nur unwesentlich. Während sich der Carvacrolgehalt in den Absetz- und Aufzuchtfuttermischungen annähernd gleich ist, unterschieden sich die Thymolgehalte sehr stark, weil unterschiedliche Oreganochargen eingesetzt werden mussten.

Tabelle 4: Analysenergebnisse der verwendeten Futtermischungen

Inhaltsstoffe je kg Frischmasse	**Absetzfuttermischungen**		**Aufzuchtfuttermischungen**	
	Kontrollgruppe	**Versuchsgruppe**	**Kontrollgruppe**	**Versuchsgruppe**
Trockenmasse, g	888	888	874	876
Rohprotein, g	209	212	166	165
Rohfett, g	73	73	42	40
Rohfaser, g	30	30	35	34
Rohasche, g	62	62	55	63
Stärke, g	306	306	418	410
Zucker, g	148	144	77	73
ME, MJ	14,96	14,96	13,75	13,54
Carvacrol, mg/kg	0	32,03	0	28,76
Thymol, mg/kg	0	0,07	0	0,34

Ein Ferkel der Kontrollgruppe ist im 1. Versuchsdurchgang am 2. Versuchstag ausgefallen. Für die übrigen Tiere verlief der Versuch ohne gesundheitliche Probleme und tierärztlicher Behandlungen.

Wie in der Tabelle 5 dargestellt hatte der Einsatz von Oregano in der Absetzphase geringe negative Einflüsse auf die Gewichtsentwicklung der Ferkel. In den folgenden 3 Versuchswochen entwickelten sich die Ferkel der Versuchsgruppe aber um 9% signifikant schlechter als die Ferkel der Kontrollgruppe.

Der Einfluss des Einsatzes von Oregano im Futter der laktierenden Sauen wird in der Tabelle 6 dargestellt. Die Ferkel, welche von Sauen stammten, die Oregano im Futter hatten, starteten mit einem 7% signifikant geringeren Anfangsgewicht. Sie entwickelten sich danach in ähnlicher Weise wie die Ferkel der Kontrollgruppe.

Die Futteraufnahme wurde um etwa 3 % durch den Einsatz von Oregano reduziert. In Kombination mit den schlechteren Wachstumsleistung der Versuchsgruppe resultierte dies in einer Verschlechterung des Futteraufwandes um etwa 4 % bei der Betrachtung beider Versuchsdurchgänge. Wobei der Futteraufwand im 1. Versuchsdurchgang über die gesamte Aufzuchtperiode gleich war. Im 2. Versuchsdurchgang trat aber eine Verschlechterung um etwa 8 % auf (Tabelle 7).

Tabelle 5: Einfluss der Oreganoeinsatzes im Ferkelfutter auf die Aufzuchtleistung

Merkmal	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe	s	P
Lebendmasse, kg				
Versuchsbeginn	7,86	7,94	1,20	0,09515
14. Versuchstag	11,66	11,44	1,57	0,4878
35. Versuchstag	23,14	21,92	2,61	0,0269
Tageszuwachs, g				
1.+2. Versuchswoche	265	250	57	0,2045
3. bis 5. Versuchswoche	546	499	70	0,0016
1. bis 5. Versuchswoche	434	400	55	0,0033

Tabelle 6: Einfluss des Oreganoeinsatzes im Futter für laktierende Sauen auf die Aufzuchtleistung

Merkmal	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe	s	P
Lebendmasse, kg				
Versuchsbeginn	8,25	7,65	1,20	0,0186
14. Versuchstag	11,96	11,14	1,57	0,0131
35. Versuchstag	23,08	21,98	2,61	0,0454
Tageszuwachs, g				
1.+2. Versuchswoche	265	249	57	0,1762
3. bis 5. Versuchswoche	529	516	70	0,3728
1. bis 5. Versuchswoche	424	410	55	0,2154

Tabelle 7: Auswertung der Futteraufwandes je kg Zuwachs der Aufzuchtferkel

Futterverwertung, kg	**Kontrollgruppe**	**Versuchsgruppe**	**s**	**P**
1. Versuchsdurchgang				
1.+2. Versuchswoche	1,39	1,42	0,1147	0,3732
3. bis 5. Versuchswoche	1,79	1,81	0,0190	0,2044
1. bis 5. Versuchswoche	1,70	1,70	0,0269	0,4990
2. Versuchsdurchgang				
1.+2. Versuchswoche	1,36	1,48	0,1303	0,2412
3. bis 5. Versuchswoche	1,80	1,92	0,0190	0,0838
1. bis 5. Versuchswoche	1,69	1,82	0,0817	0,0328
1. und 2. Versuchsdurchgang				
1.+2. Versuchswoche	1,39	1,42	0,1147	0,3732
3. bis 5. Versuchswoche	1,80	1,87	0,0632	0,0673
1. bis 5. Versuchswoche	1,69	1,76	0,0645	0,0794

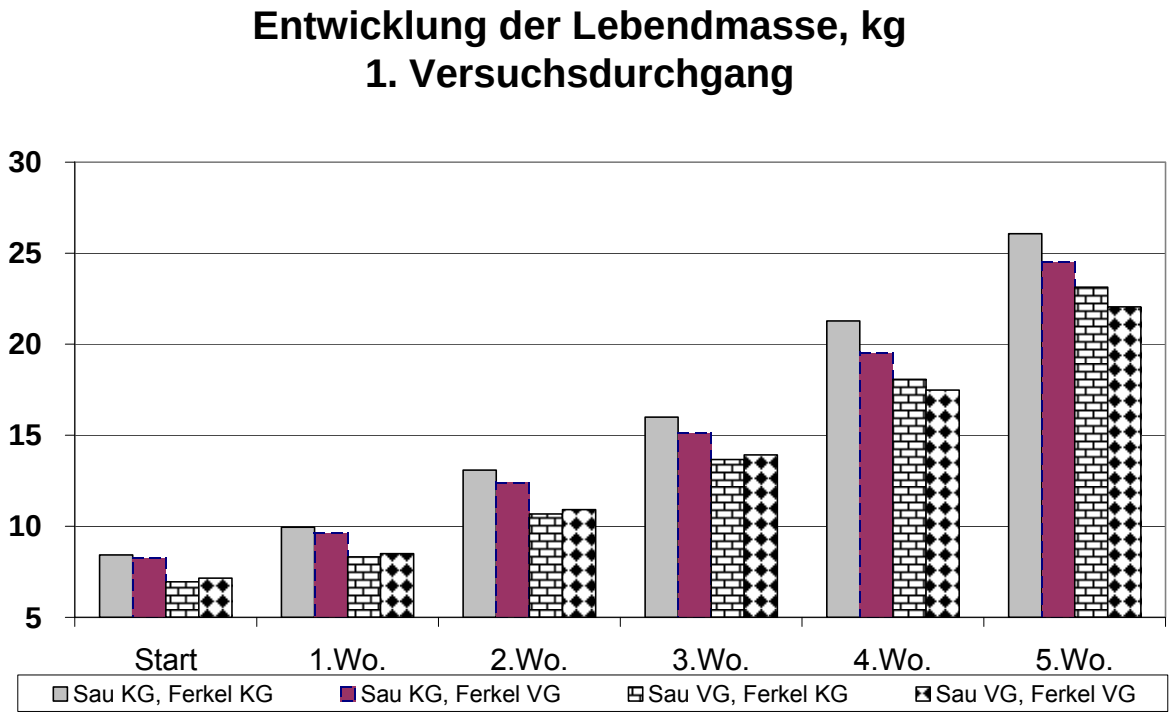


Abbildung 1

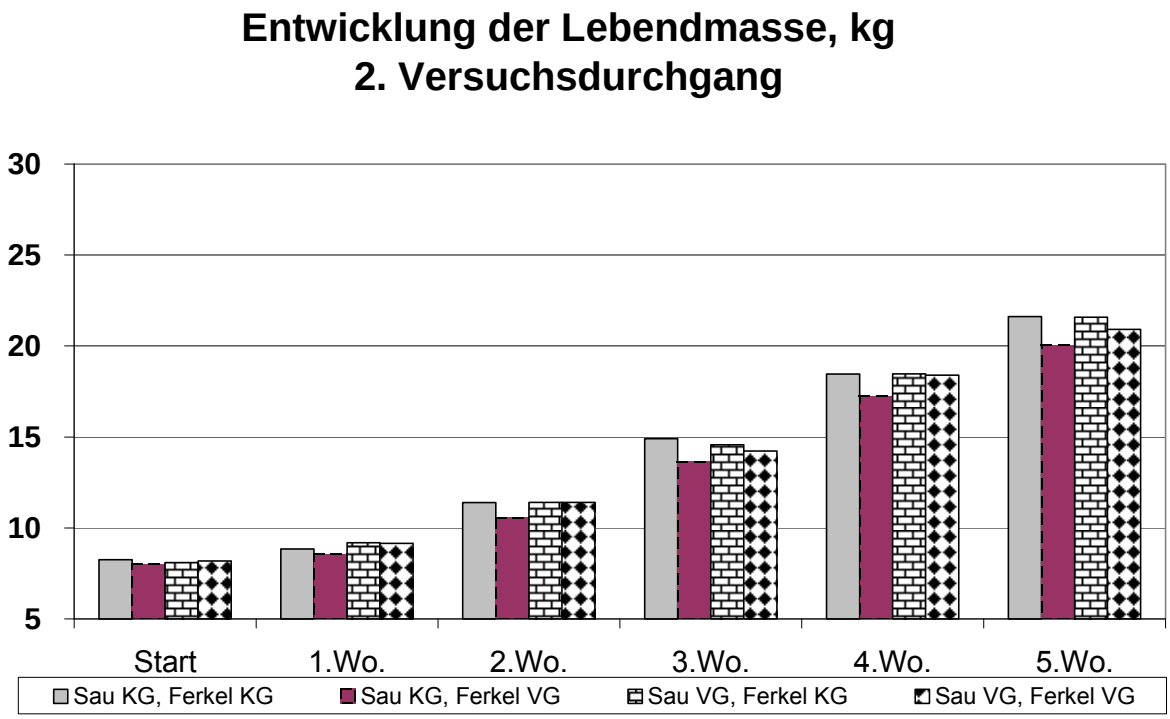


Abbildung 2

Diskussion

Oregano (*Origanum vulgare* L.) wurde schon in verschiedenen Studien als mit Fütterungsantibiotika vergleichbarer Leistungsförderer beschrieben (ALLAN und BILKEI, 2005; GÖSSLING, 2001; GÜNTHER und BOSSOW, 1998; HOFMANN et al., 2002; KYRIAKIS et al., 1998; TSINAS et al., 1998) und die Hauptkomponenten des ätherischen Öls, Carvacrol und Thymol, als potentielle Wirkstoffe bei Darmerkrankungen von Ferkeln betrachtet (GÖSSLING, 2001; RECHT, 2005).

ZITTERL-EGLSEER et al. (2007) erreichten eine positive Wirkung (+ 6% Tageszuwachs gegenüber der negativen Kontrollgruppe) durch den Einsatz der Mischung von ätherischen Ölen aus Oregano, Anis und Schalen von Zitrusfrüchten. Der Gehalt an Carvacrol lag mit 15,1 mg/kg Futter bei der Hälfte der Dosierung im eigenen Versuch. Positive Effekte auf die Leistung zeigten auch Untersuchungen mit Oreganoöl von WALD (2002) (+ 5 %) bzw. und von GOLLNISCH et al. (2001) (+ 5,5%). Im Gegensatz dazu, zeigte eine Überprüfung der Wirkung von Oreganoöl durch HEBELER et al. (2000) bzw. NEILL et al. (2006) keine Auswirkung auf die Aufzuchtleistung von Ferkeln.

Der Einsatz von 2 g/kg gemahlenem Oregano verbesserte in zwei Untersuchungen von HOFMANN et al. 2002 im Gegensatz zum eigenen Versuch die Aufzuchtleistung von Ferkeln.

Literatur

ALLAN, P. und BILKEI, G. (2005): Oregano improves reproductive performance of sows. Theriogenology, 63, 716-721.

GOLLNISCH, K., HALLE, I. und FLACHOWSKY, G. (2001): Einsatz von Kräutern und ätherischen Ölen in der Tierernährung. Proc., Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung, 36. Vortragstagung, Jena, 249-258.

GÖSSLING, A. (2001): Wirkungen eines Oreganoöl-Zusatzes als Futteradditiv auf die Darmflora von Absetzferkeln. Dissertation, Tierärztl. Hochschule Hannover.

GÜNTHER, K.D. und BOSSOW, H. (1998): The effects of etheric oil from Origanum vulgaris (Ropadiar) in the feed ration of weaned pigs and their daily feed intake, daily gains and food utilization. Proc., 15th IPVS Congress, Birmingham, 223.

Hebeler, D., Möller, T., Ewe, A., Kamphues, J. und Amtsberg, G. (2000): Einfluss eines Oreganoöl-Zusatzes zum Futter auf die Zusammensetzung von Chymus sowie die Mikroflora im Darmkanal von Absetzferkel. 6. Tagung Schwein- und Geflügelernährung, 64 – 66.

HOFMANN, M., SCHUHMACHER, A., BOLDT, E. und GROPP, J.M. (2002): Oregano (Origanum vulgare) - an alternative growth promoter for piglets? Proc., Soc. Nutr. Physiol., 11, 113.

KIRCHGESSNER, M. (2004): Tierernährung, 11.Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt.

KYRIAKIS, S.C., SARRIS, S., LEKKAS, S., TSINAS, A.C., GIANNAKOPOULOS, C., ALEXOPOULOS, C. und SAOULIDIS, K. (1998): Control of post weaning diarrhoea syndrome of piglets by in-feed application of origanum essential oils. Proc., 15th IPVS-Congress, Birmingham, 218.

Naumann, C. und Bassler, R. (1997): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. In: Methodenbuch, Band III, 3. Ausgabe, 4. Ergänzungslieferung, VDLUFA-Verlag Darmstadt.

Neill, C.R., Nelson, J.L., Tokach, M.D., Goodband, R.D., De Rouchey, J.M., Dritz, S.S., Groesbeck, C.N. und Brown, K.R. (2006): Effects of oregano oil on performance of nursery pigs. Journal of Swine Health and Production, 14 (6), 312-316.

RECHT, J. (2005): Einfluss seltener Erden in Verbindung mit phytogenen Zusatzstoffen auf Leistungsparameter beim Ferkel. Dissertation, Universität München.

Wald, C. (2002): Untersuchungen zur Wirksamkeit ätherischer Öle im Futter von Aufzuchtferkeln und Broilern. Dissertation, Universität Halle-Wittemberg.

Zitterl-Eglseer, K., Wetscherek, W., Stoni A., Kroismayr, A. und Windisch, W. (2007): Bioverfügbarkeit der ätherischen Öle eines phytobiotischen Futterzusatzes und der Einfluss auf die Leistung bzw. Nährstoffverdaulichkeit bei Absetzferkeln. Austrian J. Agric. Res. In preparation.

Anschrift des korrespondierenden Autors

Ao. Prof. Dr. Wolfgang Wetscherek
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie,
Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Straße 33, A-1180 Wien

BLITZGNEISSER
Genie im Wachstum
Fleisch bringt's
www.ama.at
Hochwertiges Eiweiß, viele Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente tragen maßgeblich zur geistigen und körperlichen Leistungsfähigkeit bei.
AGRARMARKT AUSTRIA

Transfer von Thymol und Carvacrol aus dem Futter in die Milch von Sauen sowie die Auswirkung auf die Entwicklung der Saugferkel

J. Oswald[1)], Karin Zitterl-Eglseer[2)] und W. Wetscherek[3)]

[1)] LFS Hatzendorf
[2)] Veterinärmedizinische Universität Wien
[3)] Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

In den ersten Wochen nach der Geburt müssen sich die Ferkel in sehr rascher Zeit an die hygienischen Bedingungen im Stall anpassen, eine eigene Immunabwehr aufbauen und die Ausreifung des Verdauungstraktes bewältigen. Diese Untersuchung soll prüfen, ob der Zusatz von Oregano im Zuchtsauenfutter einen Einfluss auf das Wachstum der Saugferkel hat und in welcher Höhe Thymol bzw. Carvacrol vom Futter in die Sauenmilch übergeht.

Versuchsdurchführung

Der Versuch wurde an der LFS-Hatzendorf durchgeführt. In drei Durchgängen mit jeweils 4 Sauen pro Gruppe wurde die Wirkung von 2 g/kg gemahlenen Oregano im Alleinfutter für laktierende Sauen während der Laktation gegenüber einer negativen Kontrolle geprüft (Tabelle 1). Die verwendeten Tiere stammten aus der eigenen Nachzucht des Betriebes. Es handelte sich dabei um F1-Kreuzungstiere der Rassen Edelschwein x Pietrain. Für den Versuch standen in jedem Durchgang 8 einstreulosen Abferkelboxen auf Teilspaltenboden in einem vollklimatisierten Abteil zur Verfügung. Den neugeborenen Ferkeln standen Heizlampen und Einstreu zur Verfügung. Die Ferkel wurden mit Ohrmarken gekennzeichnet und das Geburtsgewicht festgestellt. Weitere Erhebungen der individuellen Lebendmasse der Ferkel erfolgten wöchentlich.

Tabelle 1: Versuchsplan

Merkmal	**Kontrollgruppe**	**Versuchsgruppe**
Durchgänge, n	3	3
Sauen je Durchgang, n	4	4
Oregano, g/kg	-	2

Beide Versuchsgruppen erhielten das gleiche handelsübliche Zuchtsauenfutter für laktierende Sauen (Tabelle 2). Den Zuchtsauen wurde je nach Ferkelzahl zwischen 5 und 6 kg Futter je Tag vorgelegt. Sie nahmen diese Menge restlos auf.

Tabelle 2: Zusammensetzung der Zuchtsauenalleinfutter für laktierende Sauen

Komponenten, %	**Kontrollgruppe**	**Versuchsgruppe**
Weizen	25,01	24,81
Gerste	20,74	20,74
Mais	19,30	19,30
Sojaextraktionsschrot HP	15,00	15,00
Sonnenblumenextraktionsschrot	7,80	7,80
Weizenkleie	5,00	5,00
Rapsöl	2,30	2,30
Calciumcarbonat	1,70	1,70
Prämix	3,15	3,15
Oregano	--	0,2

Am Ende der Säugeperiode wurden Milchproben genommen und der Transfer der ätherischen Öle vom Futter in die Milch bestimmt.

Die Futtermischungen wurden in jedem Durchgang beprobt und auf Trockenmasse, Rohasche, Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Stärke und Zucker nach den Standardmethoden der VDLUFA (NAUMANN und BASSLER, 1997) untersucht. Der ME-Gehalt der Futtermischungen wurde nach der Schätzformel für Alleinfutter (KIRCHGESSNER, 2004) berechnet.

Die Quantifizierung der ätherischen Ölkomponenten in den Futtermitteln und Milchproben erfolgte mittels GC/MS nach einer Festphasenmikroextraktion (SPME). Um keine störenden Interferenzen von anderen Substanzen im Chromatogramm zu erhalten wurde ein Selective Ion Monotoring Modus benutzt.

Für die Bestimmung wurde 1,00 g Futter oder 1 ml Milch mit 2,0 ml Dichlormethan versetzt und 15 min. im Ultraschallwasserbad extrahiert. Das Extrakt wurde mit einem internen Standard (o-Cresol) versehen und gaschromatographisch bestimmt.

Die Analyse erfolgte mit einem Gaschromatographiegerät (HP 6890) mit massenselektivem Detektor (HP 5972) an einer 30 m x 0,25 mm Kapillarsäule (Restek Corporation, Bellefonte, PA, USA) bei einem Splitverhältnis von 1:1, einer Einlasstemperatur von 250 °C mit einem Injektionsvolumen von 1 µl. Die Starttemperatur von 60°C wurde für 5 min. gehalten, dann wurde mit einer Aufheizrate von 4°C pro min. auf 120°C und weiter mit 20°C pro min. auf 240°C aufgeheizt. Die Nachheizphase bei 300°C dauerte 5 min. Unter diesen Bedingungen eluierten Thymol nach ca. 19 min. und Carvacrol nach ca. 20 min.

Versuchsergebnisse

Die Nährstoffzusammensetzung, Energiegehalt sowie der der Gehalt an ätherischen Ölen der Futtermischungen sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

In den Milchproben konnten mit 3,4 ng/ml Thymol bzw. 13,5 ng/ml Carvacrol im Durchschnitt nur extrem geringe Gehalte analysiert werden. Das bedeutet auch unter der Berücksichtigung der Tagesmilchleistung der Sauen werden von den Ferkeln nur sehr geringe Mengen dieser ätherischen Öle aufgenommen. Für Thymol lässt sich eine Wiederfindung von etwa 2% und für Carvacrol von 0,1 % berechnen.

Tabelle 3: Analysenergebnisse des Zuchtsauenfutters für laktierende Sauen

Gehalte je kg Frischmasse	**Kontrollgruppe**	**Versuchsgruppe**
Trockenmasse, g	906	896
Rohprotein, g	182	187
Rohfett, g	38	40
Rohfaser, g	42	45
Rohasche, g	61	61
Stärke, g	415	407
Zucker, g	38	39
ME, MJ	13,55	13,48
Carvacrol, mg/kg	0	27,75
Thymol, mg/kg	0	0,41

Wie in de Tabelle 4 dargestellt, entwickelten sich die beiden Gruppen bei gleichem Ausgangsgewicht unterschiedlich. Die Tageszuwächse waren in den Versuchswochen 1, 3 und 4 in der Versuchsgruppe signifikant geringer. Zu Versuchsende hatte die Versuchsgruppe ein um etwa 9 % signifikant geringeres Absetzgewicht.

Tabelle 4: Einfluss des Oreganoeinsatzes im Futter für laktierende Sauen auf das Wachstum der Ferkel

Merkmal	Kontrollgruppe	Versuchsgruppe	s	P-Wert
Lebendgewicht, kg				
Versuchsbeginn	1,56	1,55	0,313	0,8029
7. Versuchstag	2,78	2,62	0,559	0,0458
14. Versuchstag	4,56	4,32	0,905	0,0504
21. Versuchstag	6,14	5,98	1,237	0,0047
28. Versuchstag	8,24	7,53	1,575	0,0011
Tageszuwachs, g				
1. Versuchswoche	174	154	58,6	0,0114
2. Versuchswoche	255	242	70,8	0,1861
3. Versuchswoche	271	237	59,6	<0,0001
4. Versuchswoche	254	222	68,2	0,0060
1. und 2. Versuchswoche	215	198	52,9	0,0231
3. und 4. Versuchswoche	263	229	57,5	<0,0001
1. bis 4. Versuchswoche	239	214	50,7	0,0004

Literatur

Kirchgessner, M. (2004): Tierernährung, 11.Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt.

Naumann, C. und Bassler, R. (1997): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. In: Methodenbuch, Band III, 3. Ausgabe, 4. Ergänzungslieferung, VDLUFA-Verlag Darmstadt.

Anschrift des korrespondierenden Autors

Ao. Prof. Dr. Wolfgang Wetscherek
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie,
Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Straße 33, A-1180 Wien

The effect of the phytogenic product Aromex ME Plus on the reduction of noxious gases in the stable climate

J. Perner[1], K. R. Wendler[1], E. Zentner[2], I. Mösenbacher-Molterer[2]

[1] Delacon Biotechnik GmbH, Weissenwolffstr. 14, A-4221 Steyregg, Austria;
[2] Federal Agricultural Research and Education Centre Raumberg-Gumpenstein, Department Animal Husbandry and Animal Health, Raumberg 38, A-8952 Irdning;

Introduction

The stable climate is a crucial point in the husbandry of animals. One important parameter of the stable climate is the presence of noxious gases like ammonia and carbon hydroxid. A bad stable climate has very detrimental effects on the animal health and performance (Bartuessek, 2001). Especially in the colder months in winter period high amounts of detrimental gases occure in the stable. This is because in the cold periods the air ventilation is put to a minimum to save energy costs for heating. So the occurrence of detrimental gases in the stable is mainly given in winter. In summer air ventilation is turned on to a maximum. Therefore air exchange is very high and animals should have always fresh air. This should have no detrimental effects to animal health or animal performance. On the other hand ammonia and carbon dioxide have also negative effects to the surrounding environment. They contribute to the pollution of the environment by acid rain, nitrogen deposition and aerosol formation. Especially ammonia is a topic for agriculture because ammonia is mainly produced in the agricultural sector (90%) (Döhler et al). Within the agricultural sector especially animal husbandry is responsible for the emission of ammonia. Because of these negative effects on the environment, legislation has produced directives and regulations to reduce or prevent the emission of detrimental gases.

Already in 1996 EU has adopted the so-called IPPC-directive (Directive 96/61/EC). IPPC stands for Integrated Pollution Prevention and Control and focuses on the minimisation of pollution from various industrial sources, for instance the agricultural sector. According to this regulation certain agricultural enterprises have to take action to reduce envrionmental pollution, like ammonia. The measures have to be based on so-called Best Available Techniques (BAT´s). Until now the IPPC-directive has to be fullfilled.

The phytogenic feed additive Aromex ME Plus was shown to reduce gaseous ammonia emission in many trials. Aromex ME Plus consists of essential oils and saponins. Alongside improved performace this phytogenic feed additive also decreases the aerial ammonia emissions from swine husbandry. Responsible for this effect is the natural ingredient saponins. Saponins are known to reduce the ammonia emission (Colina et al). Thereby the activity of the Urease enzyme, which is responsible for the discharge of urea into ammonia and carbon dioxide, is reduced. Consequently less ammonia is excreted into the air.

The objective of the present study was to investigate the effects of the phytogenic feed additive Aromex ME Plus on the reduction of ammonia and carbon dioxide during a fattening period in pigs.

Materials and Methods

Table 1: Feed compositions of experimental diets

Ingredients	Control	Trial
Wheat	26,4	26,4
Barley	17,3	17,3
Corn	15,0	15,0
Soy bean meal	12,0	12,0
Bread middlings	8,0	8,0
Wheat gluten	8,0	8,0
Pea	5,0	5,0
Corn pollard	5,0	5,0
Molasses	8,0	8,0
Limestone	1,7	1,7
Monocalciumphosphate	0,5	0,5
Salt	0,15	0,15
Vit-premix	0,046	0,046
Trace-premix	0,066	0,066
Vit. E	0,006	0,006
Cholinechloride	0,04	0,04
Aromex ME Plus	-	0,001
Calculated nutrients (%)		
ME, MJ	12,82	12,82
Crude protein	17,00	17,00
Calcium	7,951	7,951
Phosphorus	5,642	5,642
Available phosphorus	2,882	2,882
Lysine	9,57	9,57
Methionine	2,51	2,51

A total of 36 piglets (PI x (DE x DL) were randomly assigned to two treatment groups. Pigs were kept in special rooms with single feeding cages. The trial period was from 2nd October 2006 until 15th January 2007 (last slaughter of animals). The animals were kept from 30 to 110 kg on fully slatted floors. Additionally in the middle of the compartment a hayrack filled with straw was installed. The

compartments were cleaned and disinfected before trial-start. The slurry channel was also emptied before the trial to have no negative effects of old slurry.

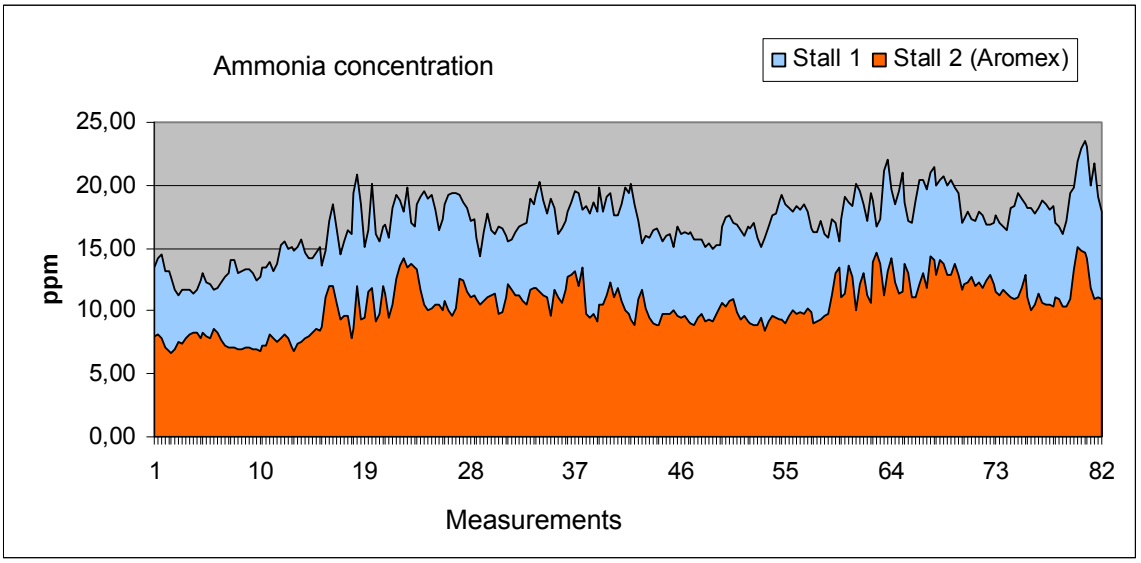
Pigs were fed on a one-phase diet (Control) or a one-phase diet supplemented with Aromex ME Plus (Trial). Piglets were fed the first 14 days ad libitum. After this period the feed was restricted and feed intake was measured.

Water was ad libitum available.

Results and Discussion

Dietary nutrient content was similar in all treatment groups. The only difference was the inclusion of 100 g Aromex ME Plus in the trial group.

There were significant treatment effects on ammonia and carbon dioxide emission. Pigs fed on diets supplemented with Aromex ME Plus had a significantly reduced ammonia emission over the whole fattening period. The ammonia reduction was 38% in average compared to the negative control group.



Graph 1: Ammonia-concentration during fattening period

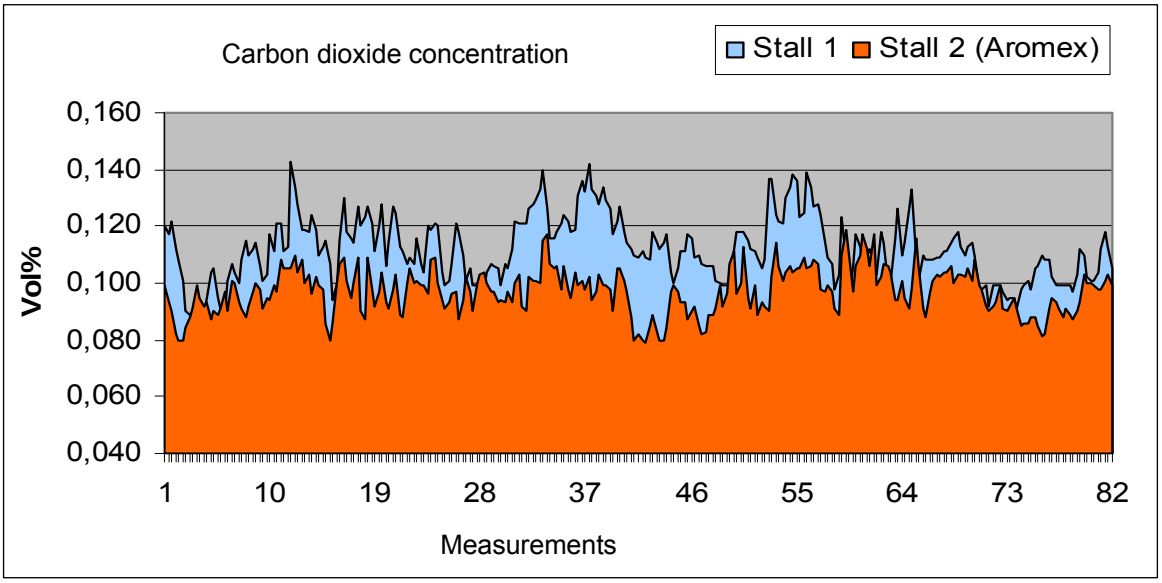
Single values showed a reduction potential of up to 55%.

Additionally the reduction of carbon dioxide was measured. Also here a reduction potential of 12% in average was found. Single values showed a reduction of 34% of carbon dioxide.

Air temperature and relative humidity in the stable are known to influence the aerial ammonia emission and absorption of ammonia by ambient air is decreased at high humidity. Therefore it is very important to consider these parameters when conducting an ammonia measurement trial.

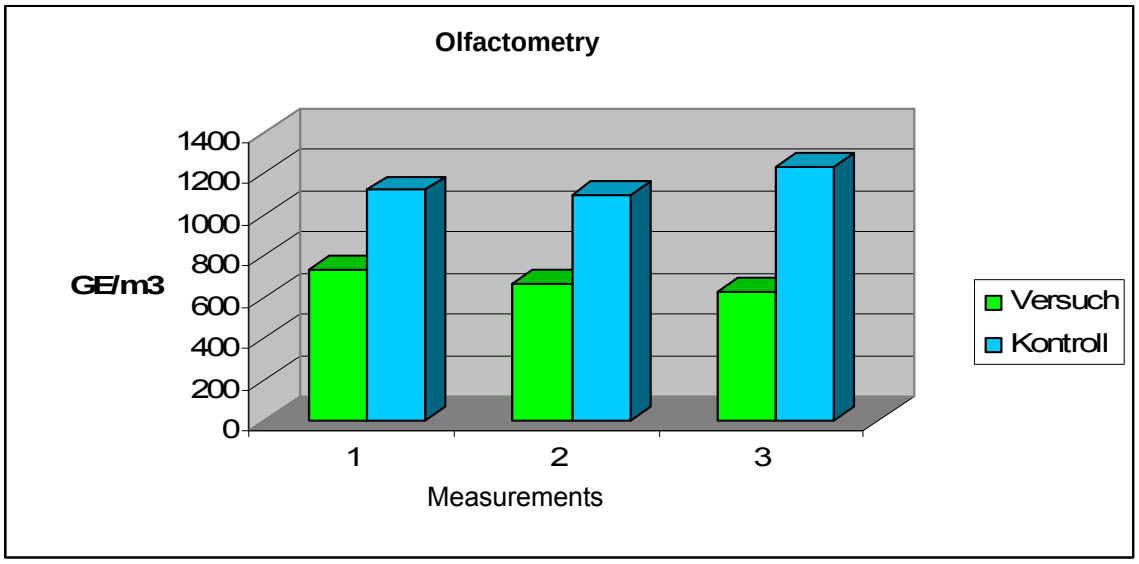
For stables with heating relative humidity should be between 40 – 70% (Bea, 2004). In the trial the relative humidity was between 35 – 60% with very low differences in the compartments which had no

effect on the aerial ammonia concentration. In both compartments the measured temperature showed no difference. The average temperatures in the control compartment was 20,8°C and 20,6°C in the trial compartment, respectively. Therefore it can be concluded that the stable climate (Air temperature and relative humidity) had no effect on the occurrence of ammonia and carbon dioxide.



Graph 2: Carbon dioxide concentration during fattening period

In addition an odorimetry was done. The result showed a similar reduction potential to ammonia. The odor units were reduced in the Aromex ME Plus supplemented group in average by



Graph 3: Odor emission

41%. In total three odorimetry measurements were undertaken, at the beginning of the trial, in the middle of the trial and at the end of the trial. All measurments were done 2-fold with an Olfactormeter (Mannebeck, TO8) and with trained people.

The enzymatic formation of ammonia is induced by the enzym urease. The reduction of ammonia, carbon dioxide and odor is the result of reduced activity of the urease – enzyme. By reducing the activity less urea is discharged into ammonia and carbon dioxide. As a result less aerial ammonia and carbon dioxide are produced. Ammonia is a part of the odor development which significantly determines the odor. Via reducing the activity of the urease enzyme and less aerial ammonia production also the typical odor is reduced.

Conclusions

Fattening pigs fed on diets supplemented with the phytogenic feed additive Aromex ME Plus had significantly reduced aerial ammonia emission during the whole fattening cycle. Therefore it can be clearly concluded that Aromex ME Plus helps to reduce the output of ammonia of pig operations. Additionally legal requirements such as IPPC regulation can be fulfilled. In addition it can be concluded that the usage of Aromex ME Plus also leads to significant reduced odor emission.

References

BARTUSSEK H., et.al. (2001): Die Auswirkung schlechter Stallluft als Folge geringer Luftraten auf Mastleistung und Gesundheit von Mastschweinen. BTU Tagung Hohenheim 2001; Tagungsband S. 320-326

Döhler H., Dämmgen U., Eurich-Menden B., Osterburg B., Lüttich M., Berg W., Bergschmidt A., Brunsch R. (2002): Anpassung der deutschen Methodik zur rechnerischen Emissionsermittlung an internationale Richtlinien sowie Erfassung und Prognose der Ammoniak-Emissionen der deutschen Landwirtschaft und Szenarien zu deren Minderung bis zum Jahre 2010. UBA-Texte 05/02

Colina, J. J., A. J. Lewis, P. S. Miller and R. L. Fisher. 2001. Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery facilities. J. Anim. Sci. 79:3096-3103.

BEA, W. (2004): Vergleich zweier Mastschweinehaltungssysteme – Beurteilung der Tiergerechtheit. Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften an der Fakultät Agrarwissenschaften, Universität Hohenheim, März 2004, Stuttgart.

Autorenanschrift

Jörg Perner
Delacon Biotechnik GmbH
Weissenwolffstr. 14
A-4221 Steyregg, Austria

Effects of silage or probiotics on performance and gut microbial composition of organic growing-finishing pigs

Philipp Nagel[1], Konrad J. Domig[2], Werner Hagmüller[3], Silvia Pfalz[2], Sophie Kronsteiner[2], Birgit Ortner[2], Albert Sundrum[4], Werner Zollitsch[1]

[1] Universität für Bodenkultur Wien, Department für Nachhaltige Agrarsysteme
[2] Universität für Bodenkultur Wien, Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
[3] HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Institut für biologische Landwirtschaft und Biodiversität der Nutztiere
[4] Universität Kassel, Fachgebiet Tierernährung und Tiergesundheit

Introduction

Organic pork is placed as a premium product on the meat market. Besides the eating quality, the nutrient content and other product quality traits, organic production also has to guarantee a high level of food safety. Meat contaminated with pathogens will potentially threaten public health (Leclerc et al., 2002). Pathogens may be introduced into the pig production chain at several levels, reaching from the feed mill to the pork distributors. Therefore, control measures must be applied on different levels if meat safety is to be guaranteed (Lo Fo Wong et al., 2002). On the herd level, the occurrence of pathogens in the intestines of growing-finishing pigs can be seen as one potential starting point for further problems in the food chain. The relevance of intestinal pathogens is probably enhanced by faecal shedding of pathogens during the transport to and handling of the animals at the slaughter house because of the stress that is unavoidably associated with these processes (Isaacson et al., 1999; Marg et al., 2001; Stark et al., 2002; Lo Fo Wong et al., 2002).

To avoid spreading of potential pathogens via this path, organic production systems focus on improved housing conditions, high quality components in nutrition and animal health and welfare. Besides the housing conditions, nutrition also plays an important role in the design of an environment that fulfils the pigs requirements. In addition to providing the pigs with the needed nutrients, feeding also directly affects animal health and therefore the economic success of organic pig production.

Since the use of allopathic drugs is substantially restricted in organic livestock production (Council of the European Union, 1999) preventive measures have to be used to maintain animal health. Various options exist for controlling the spreading of pathogens introduced into the digestive tract of livestock. Among them, following the concept of *eubiosis* seems to be a promising strategy for organic livestock; this includes the maintenance of a stable microbial population in the intestines which puts substantial competitive pressure on pathogens.

Regulation 2092/91 (Council of the European Union, 1999) oblige organic farmers to provide forage as a routine feeding management for monogastric livestock. This practice shows beneficial effects on animal health and welfare by maintaining homeostatic conditions in the intestines. The occurrence of enteric pathogens is reduced due to the formation of organic acids and the growth of competing eubacteria which utilize a variety of fibre components (non-starch carbohydrates, oligosaccharides, cellulose etc.; (Zentek, 1997; Brunsgaard, 1998; Stege et al., 2001)). Basically, a stable eubacterial microflora exerts fundamental stimuli on the formation of antibodies (Gebbers & Laissue, 1984; Alverdy et al., 1985); nevertheless, the role of fibre ingestion for the immune system has not been established yet for pigs.

Although feedstuff with relatively high fibre contents will most likely have a positive impact on animal health and welfare, their rate of intake must be kept on a moderate level in the case of growing pigs. Otherwise performance will be reduced due to the negative effect of fibre on the digestibility of nutrients in monogastric livestock (Kreuzer et al., 1994). In the case of fattening pigs, however, forage can be used as a tool for making feed restriction more animal-friendly. Carcasses with high backfat content are a relatively frequent problem in organic pork production (Vaarst et al., 2003). The probably most important factor for this problem is the lacking feed restriction in the late fattening phase, especially between about 80 to 115 kg body weight (BW).

Therefore in this study the effects of providing growing-finishing organic pigs with either grass silage, maize silage or a probiotic preparation were tested on performance, carcass quality and gut microbial composition.

Animals, materials and methods

The experiments are part of the EU-project "Quality Low Input Food" (QLIF) and were conducted at the experimental barn of the Institute of Organic Farming and Farm Animal Biodiversity (HBLFA Raumberg-Gumpenstein) from August 2006 until March 2007. 76 pigs (OEHYB and commonly used F1 x (Duroc x Pietrain)) were assigned to 4 different dietary treatments in two experimental rounds: control diet (ct), ct+grass silage, ct+maize silage, ct+probiotics. All groups were feed restricted from 90 kg BW onwards to the end of the experiment with a maximum daily feed provision of 2.7 kg of compound feed (i.e. equivalent to approximately 35 MJ). An unexpected high nutrient and energy density of some components resulted in higher energy and protein contents and hence a daily energy intake of 38 MJ per animal.

Table 1: Composition of compound feed

Components	Growing	Finishing
Barley, %	38,5	28,0
Triticale, %	20,0	31,0
Soybeans, %	15,0	12,5
Peas, %	15,0	20,0
Sunflower expeller, %	4,0	5,0
Potato protein, %	4,0	--
Premix, %	3,5	3,5

Each group (4 - 5 animals) was offered two to three kilograms of silage every morning. In case the total amount of silage was consumed by one group, the amount offered was increased. Before giving the fresh silage, the leftovers from the day before was weighed back in order to record the estimated amount that disappeared. Additionally, the n-alkane method (Mayes et al., 1986) was used three times per trial to estimate the forage intake.

Table 2: Nutritional composition of concentrate feeds of the first experimental round

1st trial	Growing	Finishing
DM g/kg	884	888
XP g/kg	188	184
XL g/kg	45	46
XF g/kg	47	39
NFE g/kg	561	570
XA g/kg	43	50
starch g/kg	406	433
sugar g/kg	56	58
ME MJ/kg	13.79	14.16
Ca g/kg	7.1	9.3
P g/kg	5.8	6.0
Mg g/kg	1.7	1.8
K g/kg	9.0	9.0
Na g/kg	1.58	2.81

Table 3: Nutritional composition of maize and grass silage of the first experimental round and straw

1st trial	grass silage	maize silage	straw
DM g/kg FM	296	441	932
XP g/kg DM	176	66	30
XL g/kg DM	33	27	14
XF g/kg DM	278	192	468
NFE g/kg DM	412	681	433
XA g/kg DM	100	33	55
ME MJ/kg DM	10.05	10.85	6.83

The probiotic group received a probiotic preparation (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Ra 18, developed at the University of Bologna) fed daily together with the compound feed. Every pig in the probiotic group was planned to receive about 200 millions of bifidobacteria per day.

All animals were weighed weekly; three times during the experiment the health status of each animal was reported. Together with blood samples for clinical chemistry and haematology, rectal faeces samples were obtained for microbiological analysis in the fourth, eighth and twelfth week of the experiment. At the end of the experiments samples of the gastric and gut content from duodenum, ileum, caecum and colon were collected at the slaughterhouse. All samples were immediately put into anaerobic bags on dry ice. The same day the bags were put into a freezer and stored at -80°C until analysis.

The samples for the estimation of forage intake (n-Alkane method) were sent to the Macaulay Institute (Aberdeen, Scotland) for analysis (ongoing). The blood analyses were conducted at the Institute of Organic Farming and Farm Animal Biodiversity (HBLFA Raumberg-Gumpenstein) immediately after collection of the samples. For microbial analysis two different methods were used: Quantitative cultural methods for relevant gut microbiota (aerobic and anaerobic total microbial count, *Bifidobacterium* sp., *Clostridium* sp., Enterobacteria and Enterococci and *E. coli*) and realtime-PCR for the detection of relevant pathogens in pigs (*Brachyspira hyodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli*, *Lawsonia intracellularis*, Salmonella enterica subsp. enterica SV Cholerasuis, Enteritidis, Thyphimurium). Statistical analysis was performed using the Statistical Analysis System SAS®, Version 9.1 (SAS Institute Inc., 2007).

Results and discussion

Since the datasets are still incomplete due to ongoing analyses, preliminary results are presented herein In Table 4 the faecal microbial composition is given for the experimental treatments.

Table 4: Microbial composition of faeces (CFU/ g DM)

Treatment	n	*Clostridium* sp.	*Bifidobacteria* sp.	*E. coli*
		p = 0.030	p < 0.001	p = 0.059
control	19	1.19*10^8^{ab}	5.95*10^8^{a}	3.74*10^5^{ab}
probiotics	19	1.09*10^8^{ab}	9.04*10^8^{c}	1.70*10^5^{a}
maize silage	19	8.10*10^7^{a}	3.49*10^8^{b}	7.48*10^5^{b}
grass silage	19	1.57*10^8^{b}	5.03*10^8^{ab}	6.43*10^5^{ab}

The only significant differences concerning the microbial composition so far detected are shown in Table 4. In general the number of Colony forming Units (CFU) per g faeces was high, indicating a well established microbial community in the gastro intestinal tract. Some of the differences between treatments were significant but in microbiological terms too small to conclude a relevant effect. Realtime-PCR showed only 4 positive results in different groups and over the two experimental rounds. In the first round three samples at the slaughterhouse showed the presence of *Lawsonia intracellularis* (2 pigs from the grass silage treatment and 1 from the probiotic treatment) and in the second round one of the faeces samples contained *Lawsonia intracellularis* (grass silage treatment). As compared to conventionally reared pigs of the numbers of micro-organisms found in this study were generally high (Petersson et al., 2007). One of the major reasons is probably the relatively high fibre content of the compound diet and the access to straw. There was no additional effect in the

silage groups, maybe due to the generally high fibre intake. Despite the presence of *Lawsonia intracellularis* in few samples, no clinical signs or growth depression were noticed for any pig.

Blood analysis did not show significant differences between treatments. However, haematological and chemical blood parameters were beyond the reference range. The amounts of Haptoglobin (acute phase protein) especially in the first experimental round were slightly above the reference. This points to a certain challenge of the immune system which was not affected by the experimental treatment. However, the relevance of the reference (Knura-Deszczka, 2000) for the present experiments, in which the pigs had access to an outside area and to straw has to be critically evaluated.

Table 5: Animal performance

treatment	n	daily weight gain	feed conversion ratio	carcass %	lean meat	pH
		p = 0.634	p = 0.557	p = 0.215	p = 0.09	p = 0.003
control	19	902 g/d	3.14 kg	79.01 %	58.52 %	6.41
probiotics	19	929 g/d	3.02 kg	79.39 %	57.84 %	6.39
maize silage	19	916 g/d	3.11 kg	79.09 %	59.64 %	6.26[b]
grass silage	19	903 g/d	3.09 kg	79.61 %	58.74 %	6.48[a]

Both the high performance level (see Table 5) and the negative clinical findings confirm the good health status of the animals.

Preliminary results for forage intake using the n-Alkane method (Mayes et al., 1986) from the first sampling period (1st experimental round) showed that all animals consumed certain amounts of forage. The control and probiotic group consumed only straw (from the straw bedding) and the grass and maize silage group a mixture of straw and silage. The relation of straw and silage is unknown but intake of grass and maize silage was observed for both silage groups.

Table 6: Estimated forage intake using the n-Alkane method (Mayes et al., 1986) and weight difference

treatment	n-Alkane method g /d and box		daily weighing of trough feeder g /d and box
	DM	**FM**	**FM**
control	263,88	283,13	
probiotics	285,75	306,60	
maize silage	297,60	674,83	450
grass silage	185,90	628,05	465

Obtaining reliable results from daily weighing of the trough feeder was sometimes difficult. All of the animals showed distinct explorative behaviour using silage as substrate; due to its structure and other factors, maize silage was obviously more attractive for pigs than grass silage. Obvious losses had to be replenished without adding too much straw or other organic material from the area around the trough feeder. After the n-Alkane analysis is completed, the results will help to correctly interpret the results derived by weighing and to estimate the overall forage intake.

However, the stimulating effect of fibre components on the gut microbiota should be granted even if the lactic acid bacteria do not survive the stomach passage. Additional effects can be expected from the formation of organic acids which help create a hostile environment in the gut for enteric pathogens(Zentek, 1997; Brunsgaard, 1998; Stege et al., 2001).

From the data available so far it can be concluded that supplementing organic growing-finishing pigs with maize silage, grasssilage or a probiotic preparation consisting of a certain strain of *Bifidobacteria* sp. does not significantly affect performance and carcass traits. Effects on the microbial composition of faeces may be too small to be of practical relevance and need to be confirmed by analysis of digesta samples from different positions of the intestinal tract. Results from analysis of blood samples for haptoglobin points to a possible stimulation or challenge of the immune system which may be a consequence of environmental factors typically present in organic livestock production, e.g. access to outdoor areas and to straw bedding and a relatively high dietary fibre content.

Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge funding from the European Community financial participation under the Sixth Framework Programme for Research, Technological Development and Demonstration Activities, for the Integrated Project QUALITYLOWINPUTFOOD, FP6-FOOD-CT-2003- 506358. The views expressed are those of the authors, not of the commission.

References

Alverdy,J., Chi,H.S. & Sheldon,G.F. (1985). The effect of parenteral nutrition on gastrointestinal immunity. The importance of enteral stimulation. *Annals of Surgery*, 202**:** 681-684.

Brunsgaard,G. (1998). Effects of cereal type and feed particle size on morphological characteristics, epithelial cell proliferation, and lectin binding patterns in the large intestine of pigs. *Journal of Animal Science*, 76**:** 2787-2798.

Council of the European Union (1999). COUNCIL REGULATION (EC) No 1804/1999 of 19 July 1999 supplementing Regulation (EEC) No 2092/91 on organic production of agricultural products and indications referring thereto on agricultural products and foodstuffs to include livestock production. *Official Journal L 222*, 0001-0028.

Gebbers,J.O. & Laissue,J.A. (1984). Das intestinale Immunsystem: I. Funktionale Aspekte. *Med.Prax.*, 79**:** 32-40.

Isaacson,R.E., Firkins,L.D., Weigel,R.M., Zuckermann,F.A. & DiPietro,J.A. (1999). Effect of transportation and feed withdrawal on shedding of Salmonella Typhimurium among experimentally infected pigs. *American Journal of Veterinary Research*, 60**:** 1155-1158.

Knura-Deszczka,S. (2000). Bewertung von Haptoglobin als Parameter zur Einschätzung des Gesundheitsstatus von Mastschweinen. Tierärztliche Hochschule, Hannover.

Kreuzer,M., Lange,M., Köhler,P. & Jaturasitha,S. (1994). Schlachtkörper- und Fleischqualität in Markenfleischprogrammen beim Schwein unter Produktionsauflagen mit dem Ziel besonders tiergemäßer Haltung bzw. einer günstigen Körperfettzusammensetzung. *Züchtungskunde*, 66**:** 136-151.

Leclerc,V., Dufour,B., Lombard,B., Gauchard,F., Garin Bastuji,B., Salvat,G., Brisabois,A., Poumeyrol,M., Buyser,M.L., Gnanou Besse,N. & Lahellec,C. (2002). Pathogens in meat and milk products: surveillance and impact on human health in France. *Livestock Production Science*, 76**:** 195-202.

Lo Fo Wong,D.M.A., Hald,T., Wolf,P.J. & Swanenburg,M. (2002). Epidemiology and control measures for Salmonella in pigs and pork. *Livestock Production Science*, 76**:** 215-222.

Marg,H., Scholz,H.C., Arnold,T., Rosler,U. & Hensel,A. (2001). Influence of long-time transportation stress on re-activation of Salmonella Typhimurium DT104 in experimentally infected pigs. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift.*, 114**:** 385-388.

Mayes,R.W., Lamb,C.S. & Colgrove,P.M. (1986). The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. *Journal of Agricultural Science,.UK*, 107**:** 161-170.

Petersson,A., Domig,K.J., Moser,E., Schedle,K., Windisch,W. & Kneifel,W. (2007). A tailor-made molecular biological strategy for monitoring the gut microbiota of pigs reflecting animal health. In: Zollitsch,W., Winckler,C., Waiblinger,S. & Haslberger A. (Eds.), Sustainable Food Production and Ethics, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.

SAS Institute Inc. (2007). SAS for Windows. Cary, NC, USA.

Stark,K.D.C., Wingstrand,A., Dahl,J., Mogelmose,V. & Lo Fo Wong,D.M.A. (2002). Differences and similarities among experts' opinions on Salmonella enterica dynamics in swine pre-harvest. *Preventive Veterinary Medicine*, 53**:** 7-20.

Stege,H., Jensen,T.K., Moller,K., Baekbo,P. & Jorsal,S.E. (2001). Risk factors for intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 50**:** 153-164.

Vaarst,M., Roderick,S., Lund,V. & Lockeretz,W. (2003). *Animal Health and Welfare in Organic Agriculture*. Oxon (UK): CABI Publishing.

Zentek,J. (1997). Diverse Kohlenhydrate in der Diätetik bei Durchfallerkrankungen der Absatzferkel. Tagungsband "Aktuelle Probleme der Schweinefütterung". Tierärztl. Hochschule Hannover.

Corresponding Author

DI Philipp Nagel
Division of Livestock Sciences, Department of Sustainable Agricultural Systems
University of Natural Resources and Applied Life Sciences Vienna
Gregor Mendel Strasse 33, A-1180 Vienna
e-mail: philipp.nagel@boku.ac.at

Simultaneous administration of probiotic and antibiotic in weaned piglets

P. Daněk[1], M. Rozkot[1], J. Smola[2]

[1]Institute of Animal Science Praha - Uhrineves
[2]University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno

Introduction

In response to the increase in the prevalence of *E. coli*-related diarrhoeas among weaned piglets in the Czech Republic in 2000 and 2001, colistin administered in water or feeds began to be used with increasing frequency instead of aminoglycosides. On many swine farms, colistin became the drug of choice in the prevention of enteritis caused by pathogenic *E.coli* strains. Furthermore *in vitro* test have demonstrated that colistin (polymyxin E) is also highly active against some other species of Gram-negative bacteria present in swine intestine, such as *Salmonella spp., Campylobacter jejuni, Klebsiella pneumonie, Pseudomonas aeruginosa* and *Fusobacterium spp.*, but not against *Proteus spp., Providentia spp.* (PRESCOTT, 2000) and all Gram - positive bacteria including (*B.cereus*), which are colistin resistant. (Colistin administered per orally to piglets passes practically unabsorbed through their gastrointestinal tract, with over 90% of it being excreted in faeces where it is bound to bacterial phospholipid membranes).

When analysing reasons for the poor effectiveness of the therapeutic use of colistin on some pig farms, we repeatedly found that also toyocerin (probiotic spores of *Bacillus cereus var. toyoi*) was administered in parallel as a feed supplement to piglets during pot-weaning period. Toyocerin was supplemented to feed mixtures as a preventive measure aimed at suppressing clinical symptoms of colibacilosis and reducing post-weaning gain losses (SIMON et al., 2001). Experience of farmers and veterinary practitioners on the farms, however, showed that the desired effect was not obtained, and doubts about the usefulness of this combination prevailed. The aim of this 13-day experiment was to compare a group of weaned piglets receiving toyocerin and colistin in the feed with a control group receiving no additives or antibiotics in their feed.

Material and methods

Piglets from two litters weaned at 28 days of age and divided into two groups of 6 each were used in the experiment. Piglets were fed *ad libitum* with a commercial feed mixture for early piglet weaning with free access to drinking water. The feed mixture for the experimental group contained 0.1 kg toyocerin per 1 tonne of mixture, i.e. the final concentration was 1.10^3 CFU per 1 g of feed mixture. Added to the feed in the trough, colistin sulphate was administered 2x daily at a total daily ration of 8g per 100 kg live weight. Piglets in the control group were fed the same mixture with no supplements. In the experiment, the weight of individual piglets and the amount of feed consumed by each of the two groups were monitored. Digestibility was determined by an analysis of faeces collected in boxes on days 5, 6 and 7 of the experiment by a conversion to the HCl-insoluble ash portion in the faeces and the feed. During the experiment, the incidence and intensity of diarrhoeas

and changes in health were monitored in individual piglets. At weaning and on subsequent days (2, 5, 7, 9, 12 and 13), rectal swabs were collected from individual piglets to monitor the incidence of normal and pathogenic *E.coli* strains and other selected bacterial causative agents of piglet diarrhoea. Selective cultivations were used monitor the shedding of the probiotic *B.cereus var. toyoi* strain. Rectal swab specimens were transported in commercial transport medium Amies (Copan Italy). For direct isolations of bacteria from swab specimens, blood agar made by adding ovine blood to the base (Columbia blood agar base CM331, Oxoid) was used. The Mac Conkey agar No.3 (CM115, Oxoid) and the selective agar Bacillus cereus selective medium (Oxoid) were also used. The number of the bacteria isolated was determined semi quantitatively on the basis of typical morphology of the colonies. *E.coli* isolates with haemolytic activity on blood agar were identified biochemically using the commercial set ENTEROtest24 (PLIVA-Lachema Diagnostika), and further typed for the presence of fimbrias K88 using the specific antiserum (ALEXA et al., 1992). *B.cereus* isolates were also identified biochemically. The probiotic strain was identified by the PCR method for the gene assay (GRANUM et al., 1999). Furthermore, to prove the identity of the probiotic strain *B.cereus var. toyoi* in rectal swabs, an antibiotic phenotype was used whereby every isolate was examined by the disk diffusion test for susceptibility to 12 selected antibacterial substances according to the NCCLS specific antibiotic phenotype confirmation protocol. Besides, rectal swabs were assayed for the causative agent of porcine proliferative enteropathy (*Lawsonia intracellularis*) by the nested PCR (JONES et al., 1993) technique with standard primers after DNA extraction (BOOM et al., 1990).

Digestibility was determined by an analysis of faeces collected in boxes on days 5, 6 and 7 of the experiment. The digestibility was determined by calculating the content of nutrients in the feed and faeces concerning the content of the marker (insoluble portion of ash). The content of dry matter, crude protein, crude fat, crude fibre, ash and organic matter were determined. At the same time, a laboratory analysis of the feeding mixture for early piglet weaning used in the experiment was performed.

Results

A comparison of parameters monitored for 13 days in piglets of the two groups (Table 1) showed that the quantity of feed consumed by piglets in the experimental group was greater by 46.2% than the quantity of feed consumed by piglets in the control group (506 g and 346 g, respectively). Checks of individual piglets' weight during the experiment showed that all piglets of the control group gained weight. In the experimental group, only 5 piglets showed weight gains. The mean daily weight gain of piglets in the control group over the experimental period was 205.4 g/day compared with 209.2 g/day in piglets from the experimental group.

Tab. 1 Weight gains and feed conversion ratio

		Control	Experiment	Index (C = 100 %)
Number of piglets		6	6	
Starting weight kg	x	7.30	7.30	100.00
SD		0.84	0.89	
Daily weight gain g	x	205.4	209.2	101.85
SD		148.2	152.3	
Feed conversion ratio kg/kg	x	1.685	2.420	143.62
Feed intake g/piglet/day		346	506	146.24

Tested at the end of the first week of the experiment, all indices of feed mixture nutrients digestibility were higher in the control group piglets (Table 2). The parameters most affected by the addition of toyocerin and colistin was digestibility of fat (C= 56.32 %, E= 47.85 %) and of fibre (C= 52.58 %, E= 48.24 %), but the differences found were not statistically significant.

Tab. 2 Digestibility coefficients (%) of control and experimental groups

		Control	Experiment	Index (C = 100 %)
Dry matter	x	80.07	78.02	97.44
	SD	0.86	0.51	
Crude fat	x	56.32	47.85	84.96
	SD	3.21	1.59	
Crude protein	x	72.31	68.67	94.97
	SD	1.27	2.09	
Crude fibre	x	52.58	48.24	91.75
	SD	3.67	5.48	
Organic matter	x	81.60	79.48	97.40
	SD	0.84	0.62	
Ash	x	53.55	52.65	98.32
	SD	2.18	2.39	

No diarrhoea symptoms were recorded among the piglets of the two groups at any time of the experiment.

Sporadic findings of a haemolytic *E.coli* strain were made by cultivation of repeatedly collected rectal swabs in the experimental group on days 2 (1 piglet) and 12 (1 piglet) of the experiment. In the control group, haemolytic isolates of *E.coli* were demonstrated in a total of nine cases. The findings were made repeatedly, at least twice in three piglets of the 6 tested. In one piglet, a haemolytic *E.coli* strain was found repeatedly on five occasions, and in the last three collections (days 9, 12 and 13) the

haemolytic strain incidence was dominant compare to remaing bacteria. Antigen K88 production was not demonstrated in any of the haemolytic *E.coli* isolates in either of the groups of piglets. Using selective isolation designed to assay the probiotic *B.cereus var. toyoi* strain, we were able to demonstrate the microorganism in rectal swab collected from all piglets of the experimental group from day 2 to day 13 of the experiment. The quantities found in rectal swab specimens were in the range 10^1 to 10^2 CFU per rectal swab. At this stage, the excretion in faeces from piglets in the experimental group was continuous without significant variations. In the rectal swabs of control group piglets, on the other hand, no *B.cereus var.toyoi* was demonstrated. No cases of *L.intracellularis* shedding were identified by nested PCR assays in any of the piglet in either group.

Discussion

It was not surprising to find that no weight gains were recorded in a feeding experiment where piglets were fed toyocerin- and colistin-supplemented feed. It is true that probiotics are used in animal nutrition, compared to humans, as feed supplements that are supposed to rapidly affect certain parameters, particularly to increase weight gains and prevent diarrhoeas-related losses in finishing operations. But reports of statistically significant improvements in weight gains in piglets or in feed conversion are rare. In a recent study, 35-day old piglets from the control group weighed more than piglets from a group fed the probiotic *B.cereus var. toyoi* strain (TARAS et al., 2005). Comparing the experimental and the control groups in our study, the most surprising was the finding of significantly higher feed consumption per kg weight gain in piglets whose feed was supplemented with a combination of an antibiotic and a probiotic. We believe that the increased feed uptake was a manifestation of an effort to compensate for lower feed conversion rates indicated by reduced digestibility of fat and fibre. Positive effects of toyocerin alone on feed conversion have been reported in a number of studies (KRYIAKIS et al., 2003). Positive effects have also been reported in a recent study, but only referred to piglets from the age of six weeks onwards (TARAS et al., 2005). Feed conversion effects of colistin alone, on the other hand, have been described rarely, and predominantly as negative, particularly regarding the decrease in proteosynthesis. In our opinion, none of the studies reported a combined use of toyocerin and colistin that might have provided a selective advantage for the propagation of the probiotic *B.cereus var. toyoi* strain other than the intrinsic bactericidal effects on *E.coli* and some other G –bacteria in the small intestines and the colon. That strains, moreover, has natural resistance against colistin also because the antibiotic is the product of another, related species, *Bacillus colistinus* strain. The selective advantage of the colistin presence for the probiotic strain was probably manifested by an increase in its numbers in the intestine content, and subsequently by its uninterrupted and constant excretion in faeces of all piglets from the experimental group. Because, however, there was no spontaneous outbreak of a diarrhoeal disease among control group piglets attributable to enterotoxigenic strains of *E.coli (K88+)* in our study either, no conclusions can be drawn in this respect. From the incidence rate of haemolytic *E.coli (K88-)* strains we may only assume that the propagation of this indicator species was suppressed to such an extent that no repeated incidence was recorded. These isolates showed susceptibility against colistin in the disk diffusion test, which is evidence of unstable levels of colistin in intestinal content. Using a very sensitive technique for the assay of *L.intracellularis* in excrements, we can rule out the existence of proliferative enteropathy in piglets of the two groups, or any negative effect of that infection on feed conversion. In real life situations on pig farms we have also come across colibacilosis in piglets receiving a diet supplemented with the probiotic *B.cereus var.toyoi* strain and treated at the same time with one of aminoglycosides dissolved in water. In those cases, however, the probiotic strain was just as affected with the bactericidal action as the pathogenic *E.coli* strains. If probiotic strains in feed mixture supplements are to be exploited to their full potential, producers of feed mixtures – and of

probiotics in particular – should clearly state which antibiotics are contraindicated with regards the propagation of the probiotic strain in the intestinal tract.

Conclusions

A parallel dietary administration of toyocerin and colistin to an experimental group of piglets over a post-weaning 13 day-period caused an increase in feed consumption compared with the control group. While there were practically no differences between mean weight gains in the two groups (0.5%), there was a decrease in feed digestibility in the experimental group. It follows from the results that effects in those indices were not potentiated. The parallel administration of colistin did, however, provide a selective advantage for the propagation of the probiotic *B.cereus var. toyoi* strain, which was then excreted regularly in excrements from day 2 to day 13 of the experiment. The occurrence of haemolytic strains of *E.coli* (K88-) in the experimental group was only sporadic compared with the controls, which indicates variations in colistin levels in the piglets' individual intestinal compartments.

The study was supported by the National Agency for Agricultural Research of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Grant No. QF 3218).

References

BOOM R., SOL C.J., SALIMANS M.M., JANSEN C.L., WERTHEIM-VAN DILLEN P.M., VAN DER NOORDAA J. (1990) Rapid and simple method for purification of nucleic acids, J. Clin. Microbiol., 28 (3), 495-503.

GRANUM P.E., O'SULLIVAN K., LUND T. (1999) The sequence of the non-haemolytic enterotoxin operon from Bacillus cerceus, FEMS Microbiol. Lett., 177 (2), 225-229.

JONES G.F., WARD G.E., MURTAUGH M.P., LIN G., GEBHART C.J. (1993) Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction, J. Clin. Microbiol., 31(10), 2611-2615.

KRYIAKIS S.C., GEORGOULAKIS I., SPAIS A., ALEXOPOULOS C., MILIOTIS C.C., KRITAS S.K. (2003) Evaluation of toyocerin, a probiotic containing Bacillus toyoi spores, on health status and productivity of weaned, growing and finishing pigs, Asian-australas. J. Anim. Sci., 16 (9), 1326-1331.

PRESCOTT J.F. (2000) Peptide antibiotics: polymyxins, glycopeptides, streptogramins, and bacitracin, p.177-190, in: Antimicrobial therapy in veterinary medicine, PRESCOTT J.F., BAGGOT J.D., WALKER R.D., 3rd ed.2000, Iowa State University Press, Ames, 796pp.

SALAJKA E., SALAJKOVA Z., ALEXA P., HORNIC M. (1992) Colonization factor different from K88, K99, F41 and 987P in enterotoxigenic Escherichia coli strains isolated from postweaning diarrhoea in pigs, Vet. Microbiol., 32 (2), 163-175.

SIMON O., JADAMUS A., VAHJEN W. (2001) Probiotic feed additives - effectiveness and expected modes of action, J. Anim. Feed Sci., 10 (Suppl. 1), 51-67.

TARAS D., VAHJEN W., MACHA M., SIMON O. (2005) Response of performance characteristics and fecal consistency to long-lasting dietary supplementation with the probiotic strain Bacillus cereus var. toyoi to sows and piglets, Arch. Anim. Nutr., 59 (6), 405-417.

Corresponding author

Petr Danek
Institute of Animal Science
Prague Uhrineves
Div.of Pig Breeding
Komenskeho 1238
517 41 Kostelec nad Orlici
Czech Republic

Efficacy testing of probiotic strains with the cell line IPEC-J2

Sabine Henikl[1], Viviana Klose[1], Petra Schmuckenschlager[1], Katharina Bayer[1], Verity Ann Sattler[1], Gerd Schatzmayr[2], Herbert Danner[2], Andreas P. Loibner[1]

[1]University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Dep. IFA-Tulln, Division Environmental Biotechnology, Konrad Lorenz Straße 20, 3430 Tulln, Austria
[2]BIOMIN Research Center, Technopark 1, 3430 Tulln, Austria

Introduction

Probiotics represent a promising natural alternative to antibiotic growth promoters to maintain health and productivity in pork production. In the course of a national project (FFG # 810657), a natural feed additive in the form of a probiotic multi-strain product for pork production that meets the regulatory requirements for registration in the European Union is developed. Therefore, bacterial strains were isolated from porcine intestinal contents. The isolates were classified, characterized and the most promising strains were identified. In the following, methods were established to study the efficacy of the potentially probiotic strains. By definition, a probiotic contributes to an improvement of the intestinal microbial balance and consequential beneficial effects for the host animal (Taras *et al.* 2007). Within this manuscript, the selected methods will be described to screen potential probiotics for beneficial effects on anti-infective defences. The methods will include non-immunological defence mechanisms, like competing with pathogens for adhesion and stabilizing the gut mucosal barrier function, as well as immunological defence mechanisms, like effects on cytokine production. The cell line IPEC-J2 was chosen to study possible interactions of the probiotic strains with the host, as the probiotic multi-strain product is meant to be used in pork production.

Keywords: feed additive, IPEC-J2, multi-strain product, pig, probiotic

Material and methods

Isolation and classification of porcine intestinal strains

Bacterial strains were isolated from various intestinal compartments (small intestine, caecum, large intestine) of healthy, adult pigs. Standard cultivation techniques were used to isolate bacteria at 37 °C under aerobic, facultative anaerobic and anaerobic conditions by using various media. Classification of isolated strains was done by using a combination of phenotypic (morphological analysis, spore staining, fructose-6-bisphosphate phosphoketolase test, biochemical characterization, protein profiling) and genotypic (random amplified polymorphic DNA ananlysis, 16S rDNA sequencing) methods.

Cultivation of IPEC-J2 cells

The IPEC-J2 cell line is a non-transformed intestinal cell line originally derived from jejunal ephithelia isolated from a neonatal, unsuckled piglet and maintained as a continous culture (H.M. Berschneider 1989, Abstract of the Annual Meeting of the American Gastroenterological Association). The IPEC-J2 cell line was kindly provided by Peter Schierack from the Freie Universität Berlin. IPEC-J2 cells were grown in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)/Ham's F12 (1:1) medium (Biochrom, Berlin, Germany) supplemented with 5 % fetal bovine serum (PAA, Pasching, Austria) and maintained in humidified 5 % CO_2 atmosphere at 37 °C.

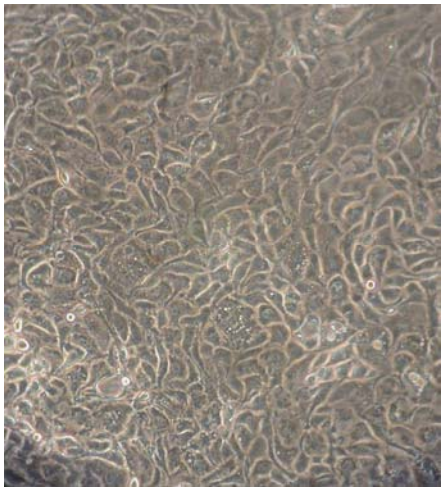


Figure 1. Confluent IPEC-J2 cells (100 x magnification)

Adhesion of probiotic strains to IPEC-J2 cells

Two different methods were applied to study the adhesion of bacterial strains to IPEC-J2 cells. IPEC-J2 cells were cultivated as described above before bacterial strains were added. After 1 h of co-incubation, unattached bacteria were washed away. In a first attempt, cells and bacteria were detached enzymatically with trypsin and the colony count of the cell suspension was determined by the plate count method. In the second approach, the epithelial cells and the attached bacteria were stained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). DAPI is a fluorescent stain that binds strongly to DNA. Cell nuclei and attached cells were detected as fluorescent structures with an epifluorescent microscope. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (ST3), a pathogenic strain with good adhesion facilities, was used as positive control.

Effects of probiotic strains on permeability of IPEC-J2 cells

To study the effects of probiotics on the intestinal permeability, the transepithelial electrical resistance (TER) was used as a parameter. IPEC-J2 cells were cultivated in Millicell hanging inserts with polyethylene terephthalate (PET) membrane (Millipore, Vienna, Austria) and the electrical resistance between the apical and basolateral surface of the monolayer was measured by the Millicell electrical resistance system (Millipore, Vienna, Austria). ST3 was used to follow the decrease of the TER of polarized IPEC-J2 monolayers after exposure to pathogenic bacteria.

Effects on cytokine production

Effects on the production of cytokines were studied by enzyme linked immunosorbent assays (ELISA). Probiotics were exposed to the IPEC-J2 cells and after defined incubation conditions the concentration of the cytokine interleukin-8 (IL-8) was determined in the supernatant by ELISA (Biosource, Nivelles, Belgium). The cytokine concentration was compared with the cytokine concentration in the supernatant of untreated cells. To study interactions with pathogens, IPEC-J2 cells were pre-incubated with probiotics, before the pathogenic bacteria (ST3) were added.

Results and discussion

Isolation and classification of porcine intestinal strains

In total, 75 strains were isolated from the small intestine, the caecum and the large intestine. The isolates were differentiated by biochemical and molecular fingerprint techniques resulting in a list of 20 potentially probiotic strains (data not shown). The most promising candidates (12 strains) regarding growth characteristics were phylogenetically assigned to the genera *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* and *Lactobacillus*. The outcome of the classification is shown in Figure 2.

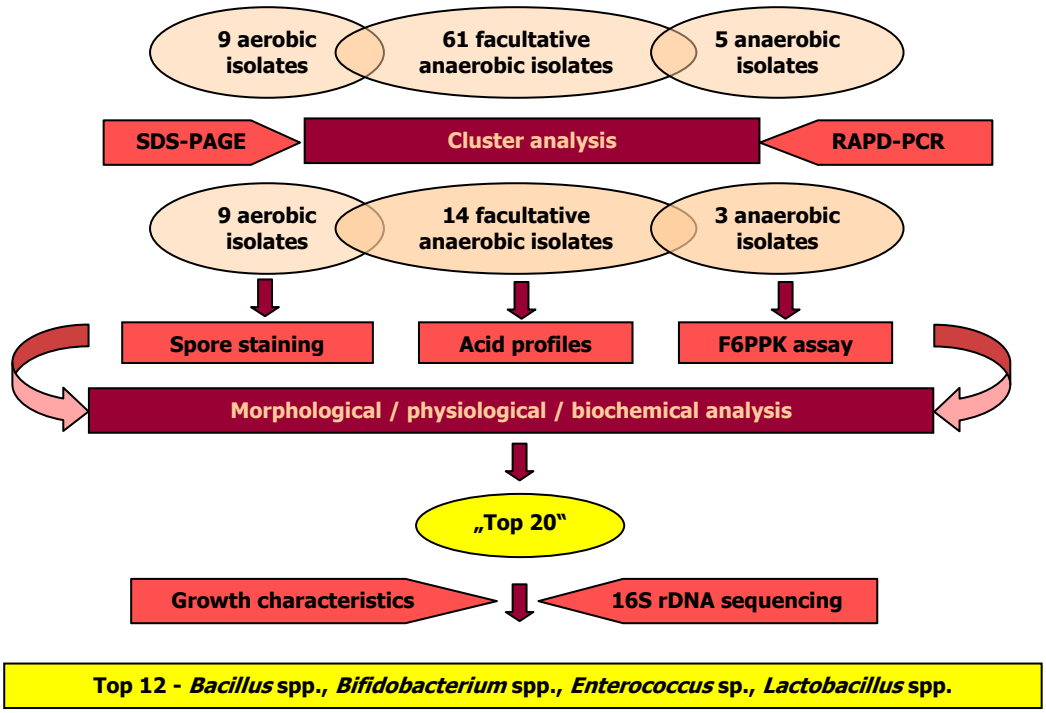


Figure 2. Overview of the classification of potentially probiotic strains isolated from various porcine intestinal compartments

Subsequently, methods were established to screen these 12 strains regarding their probiotic efficacy using the porcine epithelial cell line IPEC-J2. Selected strains of the "Top12"-list were used as test organisms for the development of the methods.

Adhesion of probiotic strains to IPEC-J2 cells

According to Saarela *et al.* (2000), the adherence to epithelial surface and the persistence in the gastrointestinal tract is a desireable trait for probiotics. To study the adhesion facilities of probiotics, two methods were evaluated. It turned out that the colony counting method had the disadvantage, that a high number of bacterial cells were attached to the surface of the dishes. In some cases, the number of unspecifically attached bacteria was higher than the number of bacteria specifically attached to the epithelial cells. Therefore, the more direct method of DAPI staining was chosen. With this method, the adhesion capability of the probiotic strains could be set in relation with the positive control ST3 (Figure 3.). ST3 was chosen because it is known to be invasive. One disadvantage of the DAPI staining was that due to rapid fading, quantification of adhesion by counting was not possible. Another disadvantage was that the method could not be used to study interactions with pathogens. The majority of infections are initiated by the adhesion of pathogens to the cells and mucosal surfaces of the host (Gill H.S. 2003). Bernet *et al.* (1993) could show that adhesion of pathogens was inhibited by probiotics *in vitro*. By DAPI staining, pathogens could not be distinguished from the probiotics.

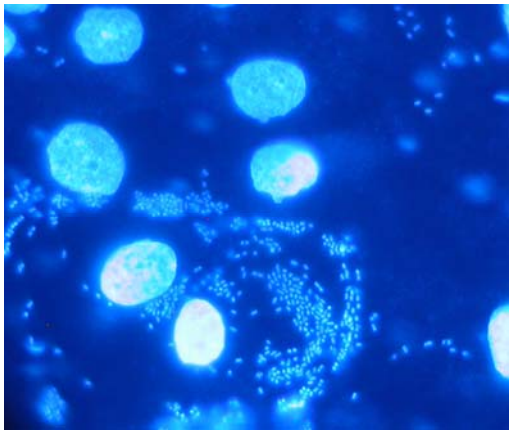


Figure 3. Attached ST3 cells to IPEC-J2 cells stained by DAPI; large fluorescent structures are nuclei of IPEC-J2 cells, small fluorescent structures are ST3 cells (1000 x magnification)

Effects of probiotic strains on permeability of IPEC-J2 cells

Intestinal permeability is a measure of gastrointestinal barrier function (Gill H.S. 2003). A parameter for the intestinal permeability is the transepithelial electrical resistance (TER). Klingberg *et al.* (2005) could show that exposure of *L. plantarum* MF1298 and *L. salivarius* DC5 increases the TER of polarized monolayers of Caco-2 cells. In contrast to probiotic cultures, *Listeria monocytogenes* 6896 decreased the TER of polarized Caco-2 monolayers (Klingberg T.D. *et al.* 2005). The decrease of TER caused by *L. monocytogenes* could be attenuated by pre-incubation with *L. plantarum* MF1298. ST3, the pathogenic strain used in this study, led to decrease of the TER within 3 h. An increase of TER, caused by a potentially probiotic strain, could not be detected, but not all "Top12"-strains have been tested yet (data not shown).

Effects on cytokine production

Cytokines comprise the largest and most pleotropic group of immune response mediators. The initiation, maintenance and resolution of both innate and acquired immune responses are regulated by cell-to-cell communication via cytokines (Gill H.S. 2003). IL-8 is a chemokine that signalizes neutrophil granulocytes to come to the site of an inflammation. In the presence of ST3, up to 5000 pg/ml of IL-8 were produced by IPEC-J2 cells. This concentration was 5 times higher than the IL-8 concentration in the supernatant of untreated epithelial cells. Selected strains of the "Top12"-list were tested, but did not show any effect on the production of IL-8. Pre-incubation with potentially probiotic strains of IPEC-J2 cells did not decrease the IL-8 response to ST3 (data not shown). Vizoso Pinto *et al.* (2007) determined that two *L. plantarum* strains and one *L. johnsonii* strain slightly induced the secretion of IL-8 by HT29 epithelial cells. They assumed that such a week immune stimulation might result in keeping the immune system alert. The residual strains of the "Top12"-list will be tested to see, if they can induce the production of IL-8 on the one hand and if they can reduce the IL-8 response to ST3 on the other hand.

Concluding remarks

Within this project, methods should be evaluated to study the efficacy of potentially probiotic strains with the help of the cell line IPEC-J2. DAPI staining was used for testing the adhesion facilities. This method turned out to be a suitable tool to get an impression of the adhesion facility of the strains, although adhesion could not be quantified. A method for quantification of adhesion should be established, by which competing with pathogens for adhesion receptors might be studied. The transepithelial electrical resistance was taken as a parameter for the gastrointestinal barrier function. So far, stabilizing effects of the strains could not be detected; however, the system works as it could be shown that the pathogenic strain *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium increased the permeability of the IPEC-J2 cells. This method will also be used to test, if the probiotic strains can attenuate or inhibit the decrease in TER caused by different pathogens. IL-8 was chosen as a criterium for studying the effects of potentially probiotic strains on cytokine production of IPEC-J2 cells. This method can also be used for studying other cytokines that are expressed by the IPEC-J2 cell line. Schierack *et al.* (2006) determined that the IPEC-J2 cell line is capable of expressing the genes encoding IL-1α, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12p40, IL-18, TNF-α and the granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF). The influence of potentially probiotic strains on the cytokine response to different pathogens by IPEC-J2 cells will also be studied.

With the help of these screening methods, the "Top12"-strains should be ranked regarding efficacy. Efficacy will also be tested *in vivo* in feeding trials. Taking the safety and producibility factors into account, an effective multi-strain product that meets the regulatory requirements for registration in the EU will be formulated.

References

Bernet, M.F., Brassart, D., Neeser J.R., Servin A.L., 1993. Adhesion of human bifidobacteria strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. Applied and Environmental Microbiology 59, 4121-4128.

Gill, H.S., 2003. Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. Best Practice & Research Gastroenterology 17 (5), 755-773.

Klingberg, T.D., Pedersen, M.H., Cencic, A., Budde, B.B., 2005. Application of measurements of transepithelial electrical resistance of intestinal epithelial cell monolayers to evaluate probiotic activity. Applied and Environmental Microbiology, 71 (11), 7528-7530.

Vizoso Pinto, M.G., Schuster, T., Briviba, K., Watzl, B., Holzapfel, W.H., Franz, C.M.A.P., 2007. Adhesive and chemokine stimulatory properties of potenially probiotic *Lactobacillus* strains. Journal of Food Protection 70 (1), 125-134.

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T., 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology 84, 197-215.

Schierack, P., Nordhoff, M., Pollmann, M., Weyrauch, K.D., Amasheh, S., Lodemann, U., Jores, J., Tachu, B., Kleta, S., Blikslager, A., Tedin, K., Wieler, L.H., 2006. Characterization of a porcine intestinal epithelial cell line for in vitro studies of microbial pathogenesis in swine. Histochemistry and Cell Biology (125), 293-305.

Taras, D., Vahjen, W., Simon, O., 2007. Probiotics in pigs – modulation of their intestinal distribution and of their impact on health and performance. Livestock Science 108, 229-231.

Autorenadresse

Sabine Henikl
University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna
Dep. IFA-Tulln, Division Environmental Biotechnology
Konrad Lorenz Straße 20, A-3430 TULLN
E-mail: sabine.henikl@boku.ac.at
Fax: +43-2272-66280-505

Wirksamkeit des mikrobiellen Zusatzstoffes BONVITAL in der Broilermast

Inke Voß-Hagen[1] und Edmund Mathies[2]

[1]H. Wilhelm Schaumann GmbH, An der Mühlenau 4, D-25421 Pinneberg
[2]IS Forschungsgesellschaft mbH, An der Mühlenau 4, D-25421 Pinneberg

Einleitung

Mit dem Verbot antibiotischer Leistungsförderer in der Tierproduktion gewinnt der Einsatz von Mikroorganismen zunehmend an Bedeutung. Störungen der Darmgesundheit gelten als Hauptgrund für Tierverluste und wirtschaftliche Einbußen in der Nutztierhaltung (Dohms 2004). Lebende Mikroorganismen werden in der Tierernährung als Probiotika zur Stabilisierung und Stimulierung der Darmflora des Nutztieres und damit zur Verbesserung des Wachstums, der Futteraufnahme, der Futterverwertung und zur Erhöhung der Vitalität der Tiere eingesetzt (Fuller 1989, Hinrichs et al. 2006).

Seit der Zulassung im Jahre 2004 wird BONVITAL für Sauen, Ferkel und Mastschweine erfolgreich eingesetzt. Zahlreiche Fütterungsversuche haben die Vorteile dieses Probiotikums auch für die Broilermast nachgewiesen und im Jahr 2006 zur Zulassung geführt.

Das getestete Probiotikum BONVITAL besteht aus einem Stamm Enterococcus faecium (DSM 7134). Ziel der Versuche war es, die Wirksamkeit des Zusatzstoffes BONVITAL auf Wachstum, Futterverwertung und Gesundheit in der Broilermast zu untersuchen.

Material und Methoden

Versuchsanstellung

Die hier dargestellten Versuche wurden an der Lehr- und Versuchsstation für Kleintiere in Kitzingen (Versuch A und B) bzw. auf dem Lehr- und Forschungsgut Ruthe (Versuch C und D) durchgeführt:

Haltung und Fütterung

Die Broiler des Kitzinger Institutsversuchs sowie die des Praxisversuchs in Ruhte wurden in Bodenhaltung mit Unterdrucklüftung und Sprühkühlung gehalten.

Basis der Futtermischungen bildete eine Weizen-Soja-Ration. Die Mischungen waren so berechnet, dass sie den Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Broiler entsprachen. Starter- und Mastfutter enthielten ein Kokzidiostatikum. BONVITAL mit dem Wirkstoff Enterococcus faecium (DSM 7134) wurde dem jeweiligen Versuchsfutter in der in Tabelle 1 angegebenen Menge zugesetzt. Die Alleinfutter waren mehlförmig (A, B) bzw. pelletiert (C, D).

Tabelle 1: Versuchsanstellung

Versuch	Versuchsort	Jahr	Design	Anzahl Broiler	Dauer	Dosierung von BONVITAL
A	Kitzingen[1]	2002	BONVITAL vs. Kontrolle	4.000	32 Tage	1×10^9 KBE/kg
B	Kitzingen[1]	2003	BONVITAL vs. Kontrolle	4.000	33 Tage	1×10^9 KBE/kg
C	Ruthe[2]	2005	BONVITAL vs. Kontrolle	18.300	36 Tage	1×10^9 KBE/kg
D	Ruthe[2]	2005	BONVITAL vs. Kontrolle	18.500	36 Tage	1×10^9 KBE/kg

[1] Bayrische Landesanstalt für Tierzucht, Lehr- und Versuchsstation für Kleintiere in Kitzingen, Dr. Damme

[2] Lehr- und Forschungsgut der Universität Hannover, Prof. Dr. Kamphues

Ermittlung und statistische Auswertungen der Daten

Die erste Wägung der Broiler der Versuche A und B erfolgte zu Beginn der Mast, an den Tagen 10 (A) bzw. 12 (B) und 28 wurde das Buchtengewicht erfasst. Am jeweiligen Versuchsende fanden weitere Einzeltierwiegungen statt. In den Versuchen C und D wurde zu Beginn und zum Ende des Versuchs das Gesamtgewicht der Broiler erfasst. An den Tagen 10, 20 und 31 wurden Einzeltierwiegungen durchgeführt. In Verbindung mit der Gewichtsermittlung erfolgte in allen Versuchen eine Futterrückwaage zur Bestimmung der Futteraufnahme.

Die Datenauswertung der Institutsversuche A und B wurde mit dem SAS-Programmpaket nach einem fixen Varianzmodell mit den Effekten Herkunft und Futterzusatzstoff (BONVITAL) durchgeführt. Der multiple Mittelwertsvergleich wurde nach dem Turky-Test vorgenommen. Die Ergebnisse der Praxisversuche C und D wurden mittels t-Test ausgewertet.

Ergebnisse

Zur Auswertung kamen die Parameter Lebendmasseentwicklung, Futterverbrauch, Futterverwertung und Tierverluste. Wie der Tabelle 2 zu entnehmen ist, führte der geprüfte Futterzusatzstoff BONVITAL bezogen auf die gesamte Mastphase zu positiven Effekten in allen vier Versuchen.

Versuch A zeigte einen durchgehend signifikanten Einfluss der Behandlung auf das Körpergewicht, die Zunahmen und die Futterverwertung. Im Versuch B hatte der Einsatz des Probiotikums BONVITAL einen positiven Effekt auf die Futterverwertung. In der Gruppe mit BONVITAL ist eine Erhöhung der Futteraufnahme um 5 % (A) bzw. 2 % (B) zu verzeichnen. Tendenziell konnte die Mortalität von einem bereits niedrigen Niveau (1,6 % in der Kontrolle) auf 0,8 % (A) gesenkt werden.

Ein deutlich höherer Zuwachs und damit ein höheres Körpergewicht der behandelten Gruppe (2,18 kg) gegenüber der Kontrolle (2,05 kg) zeigte sich in Versuch C. Im Versuch D führte der Einsatz von BONVITAL zu einer besseren Futterverwertung (-2,1%), dem wirtschaftlich wichtigsten Kriterium in der Broilermast, sowie geringeren Verlusten (-0,5%).

Tabelle 2: Leistungsparameter Broiler

		Kontrolle	1,0 x 10^9 KBE Bonvital
Zuwachs (kg)			
Versuch	A	1,36	1,46
	C	2,01	2,14
Futterverwertung (1:)			
Versuch	B	1,73	1,70
	D	1,56	1,52
Verluste (%)			
Versuch	A	1,60	0,80
	D	3,10	2,60

Diskussion

In allen vier Versuchen mit 4.000 bzw. ~ 18.000 Broilern wurde unter praxisnahen Haltungsbedingungen die Wirksamkeit der Zulage von Enterococcus faecium (DSM 7134) mit dem Handelsnamen BONVITAL geprüft. In den Versuchen A und B ist das Zunahmeniveau unter Berücksichtigung der eingesetzten mehlförmigen Futterstruktur als hoch zu Bezeichnen. Die Ergebnisse aller Untersuchungen ergaben fast durchgehend einen eindeutigen Vorteil für den Einsatz von BONVITAL. In den Versuchen konnte ein statistisch gesicherter Einfluss des Zusatzstoffes auf die Leistungsparameter Lebendmasseentwicklung, Futterverbrauch und Futterverwertung bei einer Dosierung von 1,0 x 10^9 KBE / kg aufgezeigt werden. Die im Poster nicht dargestellten signifikant positiven Ergebnisse der ersten Mastphase in den Merkmalen Körpergewicht, Zuwachs und Futterverwertung geben einen Hinweis auf die starke Wirkung von BONVITAL auf Jungtiere mit einem noch nicht ausreichend ausgebildeten Immunsystem. Diese Aussage wird unterstützt durch zahlreiche Rückmeldungen aus dem Praxiseinsatz.

Literatur

Dohms J. (2004): Aspekte der Darmgesundheit und Chancen für den Einsatz von Probiotika. Lohmann-Information 4:27.

Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. A review. Journal of Applied Bacteriology 66:365.

Hinrichs M., Verspohl J. und Kamphues J. (2006): Enterococcus faecium as a feed additive for Broiler chickens - its effects on the intestinal flora and its activity when Monensin is included in the diet as anticoccidial agent. 60. Gfe-Tagung in Göttingen 21.-23.03.2006; publiziert in: Proc. Soc. Nutr. Physiolog. (2006) 15:76.

Autorenanschrift

DI Inke Voß-Hagen
H. Wilhelm Schaumann GmbH
An der Mühlenau 4, D-25421 Pinneberg
e-Mail:inke.voss-hagen@schaumann.de

Führende Konzepte
Betriebsgerechte Lösungen für die erfolgreiche Fütterung, Futterkonservierung und Stallhygiene. Alles aus einer Hand.
www.schaumann.at
SCHAUMANN
– Erfolg im Stall
SCHAUMANN · 2345 Brunn am Gebirge · Tel. 0 22 36 - 3 16 41 · info@schaumann.at

Ergebnisse zum Langzeiteinsatz des mikrobiellen Zusatzstoffes Provita LE in der Kälberaufzucht.

L. Raab, E. Mathies

IS Forschungsgesellschaft mbH

Einleitung

Gedek (1996) definierte Probiotika als Keime, die regulativ in die Besiedelung des Darmes eingreifen und auf diese Weise die Belastung des Tieres durch unerwünschte Keimbesiedelung vermindern. Nach Fuller (1989) handelt es sich bei Probiotika um lebensfähige Formen von Mikroorganismen, die als Futterzusatzstoffe appliziert werden und sich begünstigend auf das Gleichgewicht der intestinalen Mikroflora des Wirttieres auswirken.

Freitag et. al. (1998) kam bei einer Auswertung von 15 Arbeiten zum Einsatz von Milchsäurebakterien bei Kälbern zu einer Erhöhung der täglichen Zunahmen um 5,2 %, zu einer Steigerung des Futterverzehrs um 3,3 %, bei einem gleichzeitigen Rückgang des Futteraufwandes pro kg Zuwachs um 1,5 %.

Simon (2004) berichtet von einem Rückgang der Durchfallhäufigkeit bei Kälbern (50 bis 85 kg LG) unter Praxisbedingungen um 35 % beim Einsatz eines Enterococcus faecium Präparates.

Die Daten zur Wirksamkeit des Probiotikum Provita LE(E 1706. eine Mischung aus Enterococcus faecium DSM 7133 und Lactobacillus rhamnosus DSM 7133) bei Aufzuchtkälbern sind in der vorliegenden Studie zusammengestellt.

Material und Methoden

Die Versuche für die Zulassung erstreckten sich über einen Zeitraum von 1992 bis 2003. Durchgeführt wurden die Versuche an der FAL Braunschweig, der TU München und der ISF Wahlstedt. 2007 wurde ein Versuch in einer privaten Einrichtung in Holland abgeschlossen. In der Mehrzahl wurden die Versuche mit zugekauften Bullenkälbern durchgeführt. Die jüngsten Tiere waren zu Versuchsbeginn im Mittel 7 Tage, die ältesten im Mittel 38 Tage alt. Die kürzeste Versuchsdauer betrug 7, die längste 16 Wochen.

In den Versuchen mit der kürzeren Dauer wurde die Tränke und damit auch Provita LE während des gesamten Versuchszeitraumes verabreicht, in den anderen Versuchen 6 – 8 Wochen. Als Tränke kamen Milchaustauscher mit Magermilch (35 und 60 % Magermilchpulveranteil) und magermilchpulverfreie MAT in variierender Fett- und Eiweißgehalten zum Einsatz.

In 2 Fällen handelt es sich um eine positive Kontrolle, in den anderen Versuchen um eine negative Kontrolle. Neben der Tränke erhielten die Kälber Heu bzw. Silage und Kraftfutter.

Erfasst wurden in den Versuchen die Aufnahme an Milchaustauscher, Kraft- und Grundfutter, sowie die täglichen Zunahmen. Zusätzlich wurden Daten zum Gesundheitsstatus erhoben.

Abbildung 1 gibt einen Überblick zu den Versuchen.

Versuchs Nr.	Kälber zugekauft	Alter bei Versuchsbeginn	Kontrolle		mit MMP	Versuchs-dauer Wochen*
			negativ	positiv		
1	nein	7	x		x	6/16
2	ja	11	x			8/14
3	nein	8	x			12
4	ja	15		x		12
5	ja	13		x		12
6	nein	38	x			8/16
7	ja	14	x			8/12
8	ja	19	x		x	7
9	ja	15	x			9/12

* 1. Wert Tränkephase, 2. Wert Gesamtversuchszeitraum

Abbildung 1 Übersicht zu den Versuchen

Ergebnisse

Die täglichen Zunahmen bei Einsatz von Provita LE stiegen über alle Versuche bis zum Ende der Tränkephase um 8,2 % gegenüber allen Kontrollgruppen an (Tabelle 1). Die Kraftfutteraufnahme nahm um 15,5 und die Grundfutteraufnahme um 6,9 % zu.

Tabelle 1 Tägliche Zunahmen und Futteraufnahme, Veränderungen gegenüber Kontrollgruppe in %

	alle Versuche	Versuche mit 2 Phasen	
	Tränkephase	Tränkephase	gesamter Versuchszeitraum
Tgl. Zunahmen	8,2	10,7	5,9
Kraftfutteraufnahme	13,5	18,7	4,9
Grundfutteraufnahme	6,9	8,5	3,6

	negative Kontrolle		positive Kontrolle	Versuche mit MMP
	Tränkephase	gesamter Versuchszeitraum	gesamter Versuchszeitraum	
Tgl. Zunahmen	9,7	6,1	5,2	7,75
Kraftfutteraufnahme	15,7	5,8	6,1	12,5
Grundfutteraufnahme	7,9	4,4	3,3	4,8

In den 2-phasigen Versuchen, bei denen nach der Tränkephase noch eine Absetzphase folgte, stiegen die Zunahmen bis zum Ende der Tränkephase um 10,7 % an, die Aufnahme an Kraft- und Grundfutter erhöhte sich um 18,7 und 8,5 %. In der anschließenden Phase stiegen die Zunahmen in 4 von 5 Versuchen in der Versuchsgruppe weiter an, im Mittel um 3,3 %. Über den gesamten Versuchszeitraum wurden bei den Zunahmen Steigerungen um 5,9 % und bei den Kraft- und Grundfutteraufnahmen um 4,9 und 3,6 % erreicht.

Gegenüber den negativen Kontrollgruppen betrugen die Steigerungen während der Tränkephase bei den Zunahmen 9,7 %, bei Kraft- und Grundfutter 15,7 und 7,9 %.

In den beiden Versuchen mit einer positiven Kontrollgruppe wurden immer noch Steigerungen von 5,2

6,1 und 3,3 % bei den tgl. Zunahmen und bei Kraft- und Grundfutter verzeichnet. In den beiden Versuchen mit MMP betrugen die jeweiligen Steigerungen in den Zunahmen und bei den Futteraufnahmen 7,75; 12,5 und 4,8 %

Die verwendeten und in ihrer Zusammensetzung unterschiedlichen Milchaustauscher hatten keine Effekte auf Zunahmen und Futteraufnahme. Weder die Versuchseinrichtung noch die Jahreszahl der Versuchdurchführung hatten einen wesentlichen Einfluss auf die gemessenen Faktoren.

In 5 von 9 Versuchen konnte eine Reduzierung des Krankheitsgeschehens festgestellt werden.

Ein interessanter Ansatz zeigte sich in einem Versuch der Testreihe. Kälber, die Provita LE erhielten überwanden den Impfstress (Nachimpfung BRSV/IBR) ohne sichtbaren Effekt. Die Kälber der Kontrollgruppe reagierten dagegen mit einem deutlichen Wachstumsknick. Abb. 2

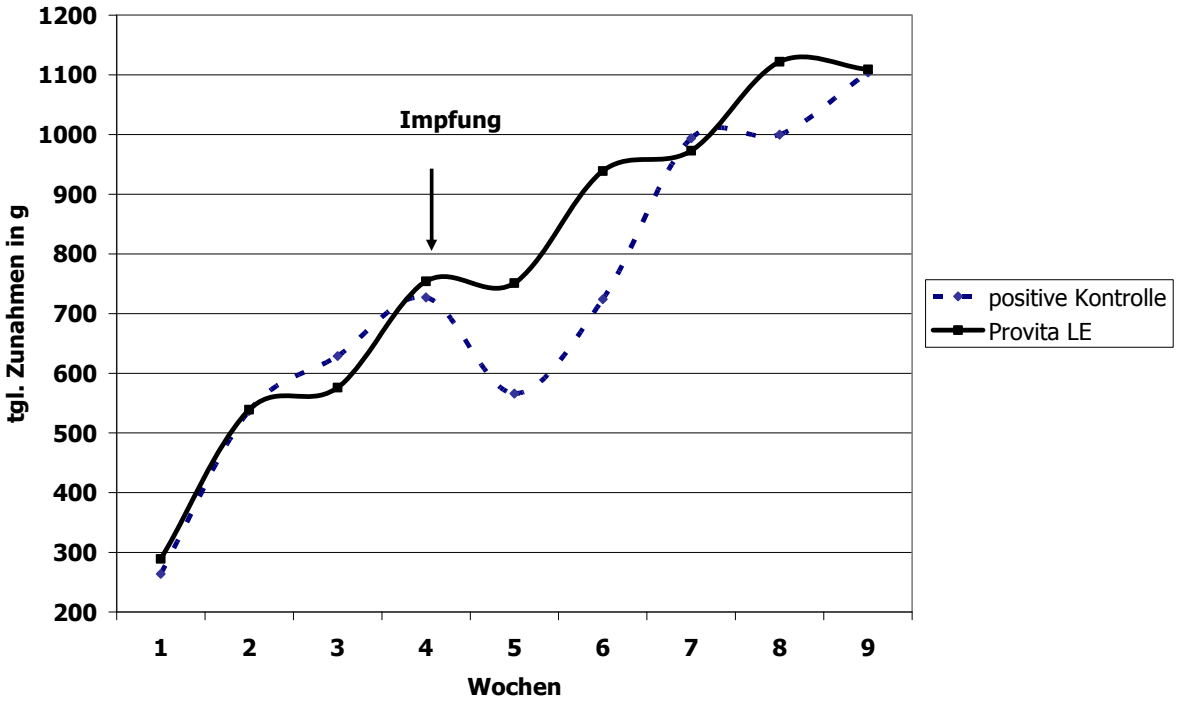


Abbildung 2 Einsatz von Provita LE unter Stress

Diskussion

Die vorgestellten Versuche wurden in 3 verschiedenen Einrichtungen durchgeführt. Zum Teil wurden diese mit eigenen aufgezogenen Kälbern durchgeführt, zum größeren Teil handelt es sich um Zukaufkälber. Das Alter bei Versuchsbeginn reicht von 7 bis 38 Tage. Die längste Versuchsdauer betrug 16 Wochen. Die Versuche erstrecken sich über einen Zeitraum von 15 Jahren. Trotz dieser sehr unterschiedlichen Ausgangssituationen ergab der Einsatz des mikrobiellen Zusatzstoffes Provita LE über in allen 9 Studien positive Effekte auf Zunahmen und in der Regel auch auf die Futteraufnahmen.

Zum Teil konnte auch eine verbesserte Futtereffizienz festgestellt.

Über den Zeitraum von 15 Jahren haben sich die Komponenten der eingesetzten MAT verändert. Der Anteil von MMP wurde reduziert oder vollkommen aus den Rezepturen entfernt. Da in den Versuchen weder ein zeitlicher Effekt noch ein durch die Zusammensetzung bedingter Effekt zu verzeichnen ist, hat Provita LE in allen eingesetzten MAT seine Leistungsfähigkeit bewiesen. Diese Aussage wird dadurch unterstützt, dass auch zwischen den einzelnen Einrichtungen keine gerichteten Unterschiede vorhanden sind.

In den letzten Monaten und Jahren sind die Rohstoffkosten besonders für die Milchbestandteile drastisch gestiegen. Dadurch haben neue Komponenten Eingang in die Rezepturen gefunden. Für die praktische Anwendung ist es von großem Vorteil, beim Einsatz eines Probiotikums auf die Zusammensetzung keine Rücksicht nehmen zu müssen.

Das Probiotikum wurde nur während der Tränkephase eingesetzt. In 5 Fällen wurde der Versuch fortgesetzt, ohne dass Provita LE eingesetzt wurde. In den Versuchen zeigte sich, dass während der Tränkphase die prozentualen Steigerungen höher waren als über den gesamten Versuchszeitraum. Es fand dennoch keine Kompensation nach der Tränkephase statt. Im Gegenteil, in 4 von 5 Versuchen waren die Zunahmen auch in diesem Abschnitt mit der Zulage um 3,3 % höher.

Die Leistungsfähigkeit von Provita LE wird auch dadurch demonstriert, dass auch in den beiden Versuchen mit positiver Kotrollgruppe höhere Zuwächse durch Provita LE erzielt wurden.

Die Anfälligkeit für Atemwegs- und Durchfallerkrankungen ist bei zugekauften Kälbern wesentlich höher als bei eigen aufgezogen Kälbern. Provita LE ist offensichtlich in der Lage die Immunitätslage von Kälbern zu verbessern. Dies kommt durch die geringere Erkrankungsrate in 5 von 9 Versuchen und in der besseren Überwindung des Impfstresses zum Ausdruck.

Literatur

Freitag, M. Hensche H.-U., Schulte-Sienbeck H., Reichelt B. (1998) Kritische Betrachtung des Einsatzes von Leistungsförderern in der Tierernährung. Forschungsberichte des Fachbereichs Agrarwirtschaft, Soest, 8.

Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. a review. J. Appl. Bacteriol., 66, 365 – 378

Gedek, B. (1986) Probiotika in der Tierernährung Wirkungen auf Leistung und Tiergesundheit. Kraftfutter 3, 80 – 84

Simon O. (2005) Mikroorganismen als Futterzusatzstoffe: Probiotika- Wirksamkeit und Wirkungshinweise 4. Boku-Symposium Tiernährung

Autorenanschrift

IS Forschungsgesellschaft mbH
An der Mühlenau 4
D – 25421 Pinneberg
Tel. Nr. ++49(0)4101/218-0

In vitro inhibition/stimulation of the growth capacity of gut bacteria by TOYOCERIN® (*Bacillus cereus* var. *toyoi*)

M. A. Calvo Torras[1], C. Adelantado[1], G. Jiménez[2], M. Castillo[2], G. Meyer [3], A. Blanch[2]

[1] Research Group Applied and Environmental Microbiology, UAB, Barcelona, Spain.
[2] Rubinum SA Animal Health, Barcelona, Spain.
[3] Lohmann Animal Health, GmbH & Co.KG, Cuxhaven, Germany.

Objective

The objective of this trial was to deepen the current knowledge of the mode of action of Toyocerin®. For this purpose, we tested the *in vitro* ability of Toyocerin® to inhibit or stimulate the growth of intestinal bacterial strains known to be relevantly involved in health and zootechnical performance of farm animals.

Introduction

Toyocerin® is a probiotic containing viable spores of *Bacillus cereus* var. *toyoi* (NCIMB 40112/CNCM I-1012). As E.C. Nr. E-1701, it is authorised for use in piglets, fattening pigs, sows, fattening chicken, fattening rabbits and fattening cattle, according to Council Directive 70/524/EEC. This additive has subsequently entered in the Community Register of Feed Additives as an existing product, in accordance with Article 10 of Regulation (EC) No 1831/2003. Throughout the last years, in cooperation with European universities, a variety of studies have been carried out, investigating the mode of action of this probiotic. Those studies demonstrated the *in vivo* efficiency of Toyocerin® in modulating the intestinal microflora: it sustains beneficial bacteria such as lactobacilli and decreases the amount of potentially pathogenic germs like *Escherichia coli* (Jadamus *et al.*, 2000, 2002; Simon *et al.*, 2002, Taras *et al.*, 2005). However, up to the present time, it is not known how this effect is achieved. Thus, an *in vitro* trial was designed, focussing on specific effects of Toyocerin® on those intestinal bacterial strains playing a relevant role in health and zootechnical performance of farm animals.

Material and methods

Campbell's method (1960) was used to study the impact of Toyocerin® on the growth of the following bacterial strains: *Escherichia coli* CECT45, *Yersinia enterocolitica* CECT559, *Salmonella enteritidis* CECT4700, *Salmonella typhimurium* CECT443, *Clostridium perfringens* CECT4647, *Staphylococus aureus* CECT59, *Enterococcus faecalis* CECT184, *Bacteroides fragilis* CIP105891, *Streptococcus suis* CECT958, *Brachyspira hyodysenteriae* ATCC 27164T, *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. (CECT: Colección Española de Cultivos Tipo; ATCC: American Type Culture Collection; CIP: La Collection de l'Institut Pasteur (Strain Collection of the Pasteur Institute).

Briefly, plates containing adequate culture media for the growth of each mentioned bacterial strain were prepared and a suspension of each respective strain was inoculated for five minutes. Wells of 6 mm in diameter were formed on the plate surface and these wells were filled with spores of *Bacillus cereus* var. *toyoi* (i.e. the current form present in the commercial product). Following incubation for 24-48 hours, the results were evaluated.

These experiments were repeated, using the vegetative form of the probiotic instead of spores. Prior to starting the test, cultures of *Bacillus cereus* var. *toyoi* were produced and vegetative activity was confirmed.

Additionally, co-cultures of each bacterial strain with probiotic cultures were performed in order to evaluate the percentage of Toyocerin® - induced growth inhibition/stimulation of the bacterial strains tested. Herefore, the probiotic cultures were adjusted to a concentration of $8{,}3x10^{10}$ CFU/mL and bacterial cultures to a concentration of $1x10^{7}$ CFU/mL. After 24 hours of co-incubation, the growth of each one of the bacterial strain in the presence of Toyocerin® was evaluated and compared with the growth of the respective strains observed in axenic cultures.

The enzymatic activity of the probiotic Toyocerin® was evaluated by using the system API ZYM®, which allows the analysis of 19 different enzymatic reactions.

Results and discussion

Applying Campbell`s method, no inhibiting nor stimulatory effect was observed on the growth of the tested bacterial strains when they were confronted with the spores of *Bacillus cereus* var. *toyoi*. However, vegetative cells of *Bacillus cereus* var. *toyoi* showed inhibiting activity against *Y. enterocolitica*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. suis* and *B. hyodisenteriae* (see Table 1).

Table 1. Inhibition values on tested bacterial strains by vegetative cells of *Bacillus cereus* var. *toyoi* (Campbell's method)

Bacterial strains	Inhibition values by vegetative cells of *Bacillus cereus* var. *toyoi* [1]
Yersinia enterocolitica	1.5
Salmonella enteritidis	0.5
Salmonella typhimurium	1.0
Escherichia coli	1.5
Staphylococcus aureus	0.5
Enterococcus faecalis	NI
Streptococcus suis	0.5
Brachyspira hyodysenteriae	0.5
Clostridium perfringens	NI
Bacteroides fragilis	NI
Lactobacillus spp.	NI
Bifidobacterium spp.	NI

NI = No inhibition

[1]In order to be able to compare the inhibition observed in the growth of the bacterial strains tested, the following formula was applied: (Diameter of the observed inhibition – Diameter of the well containing probiotic (6 mm))/2). The value obtained is called Inhibition Value (IV).

Those bacterial strains showing growth reduction when confronted with vegetative cells of *Bacillus cereus* var. *toyoi* were submitted to the co-culture experiment. The percentages of Toyocerin® - induced growth reduction/stimulation of the bacterial strains, detected after 24 h of co-culture, are shown in Table 2.

Table 2. Percentage of growth reduction of various bacterial strains in the presence of vegetative cells of *Bacillus cereus* var. *toyoi*

Bacterial strains	Reduction percentage
Yersinia enterocolitica	95 %
Salmonella enteritidis	90 %
Salmonella typhimurium	95 %
Escherichia coli	95 %
Staphylococcus aureus	60 %
Streptococcus suis	70 %
Brachyspira hyodysenteriae	65 %

Interestingly, no growth inhibition was detected concerning *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium*. In contrast, a stimulatory effect of 20% and 15%, respectively, was observed.

The results obtained by the API ZYM test showed that *Bacillus cereus* var. *toyoi* exhibits a wide range of enzymatic activities (see Table 3).

Table 3. Enzymatic activity of Toyocerin

Enzymes	Activity (nmol)
Alkaline phosphatise	20.0
Esterase (C1)	5.0
Esterase lipase	5.0
Lipase	2.5
Leucine arylamidase	>30
Valine arylamidase	2.5
Acid phosphatise	10.0
Naphtol-AS-BI-phosphos-hydrolase	20.0
α-glucosidase	10.0

Esterases are extracellular enzymes produced by moulds, yeast and bacteria. They act upon cell membranes / cell walls by breaking ester linkages and cleaving lipids, polysaccharides and lignine, thus allowing hydrolases to enter the microorganism. Hydrolases affect compounds of high molecular weight like carbohydrates and proteins. Phosphatases can inhibit the formation of teichoic acids of the cell wall of gram-positive bacteria and, in addition, negatively affect the degradation of glucose as source of energy of the microorganisms. Microorganisms producing the enzymes mentioned above clearly possess a destructive activity upon gram-negative bacteria, as well as upon certain components of gram-positive bacteria. The detection of Leucine arylamidase and valine arylamidase activity of *Bacillus cereus* var. *toyoi* indicates a possible interference with the protein synthesis of affected bacterial strains. (Calvo and Adelantado, 2006).

These results suggest a direct enzymatic action of Toyocerin® against various bacterial strains.

The gastrointestinal microflora is a highly complex ecosystem: studies suggest that between 500-1000 different microbial species colonize the adult intestine (Noverr and Huffnagle, 2004), amounting to approximately 10^{14} microorganisms (Pickard et al., 2004). This ecosystem is affected by a variety of factors such as immune reactivity, the presence of intestinal epithelial receptors, nutrient availability and composition, the flow of digesta, pH, molecular oxygen and oxidation/reduction potential (Stewart et al., 1993).

Several studies have demonstrated an increase in lactobacilli and a decrease in *E. coli* in different sections of the gastrointestinal tract and in faeces when animals were fed with Toyocerin® (Breton *et al.*, 1995; Jadamus *et al.*, 2002; Blanch *et al.*, 2005). Both lactobacilli and enterobacteria have been traditionally selected as microbial groups with particular significance for gut health: the ratio between these two bacterial groups is commonly used as a gut-health indicator. It is desirable that lactic acid bacteria outnumber enterobacteria population, thus improving intestinal resistance against opportunistic pathogens (Ewing and Cole, 1994). This effect might be partially explained by an immunostimulatory effect of lactobacilli in the gut (Perdigón *et al.*, 2001). The Toyocerin®- induced

direct inhibition of enterobacteria and the promotion of lactic acid bacteria shown in this trial help to understand the background for the shift in the intestinal microbial composition induced in animals fed with the probiotic.

In vivo studies showed an inhibiting effect of Toyocerin® on intestinal Clostridia colonisation (data not published), although *in vitro* no inhibiting effect on Clostridia could be demonstrated so far. Indirect effects of the probiotic that cannot be detected *in vitro*, such as an immunostimulatory effect recently attributed to Toyocerin®(Scharek et al., 2007), might be responsible for this discrepancy.

Conclusions

The results obtained in this trial allow us to conclude that Toyocerin® has a direct inhibiting activity upon mainly gram negative bacteria in the intestine, in parallel with a stimulatory effect upon lactic acid bacteria. Enzymatic activities of *Bacillus cereus* var. *toyoi* might play an important role in this process. Based on these findings Toyocerin® will play a key role in the development of new strategies for optimising animal intestinal health.

Literature

Blanch, A., L., Arantzamendi and I. Marzo. (2005): Advances in the utilization of *B. toyoi* in diets for piglets. Complementarity and compatibility with ZnO. XXVI ANAPORC Symposium, Lorca (Spain). September 14-16th.

Breton, J., A. Muñoz, M. Valero, F. Berrocal and M. Martínez. (1995): Efecto de la administración de *Bacillus toyoi* en el Ganado porcino sobre los parámetros productivos, la incidencia de patologías y la evolución de la flora intestinal. Comunicación personal.

Calvo, M., and C. Adelantado. 2006. Technical report (not published).

Campbell, A. H. (1960): The search for new antibiotics. Br. Med. Bull. Vol. 16, no. 1: 82-85.

Ewing, W. N., and D. J. A. Cole. (1994): The living gut. An introduction to microorganisms in nutrition. Context, Ireland, UK.

Jadamus, A., W. Vahjen, and O. Simon. (2000): Influence of the probiotic bacterial strain, *Bacillus cereus* var. toyoi, on the development of selected microbial groups adhering to intestinal mucosal tissues of piglets. J. Anim. Feed. Sci. 9: 347-362

Jadamus, A., W. Vahjen, K. Schäfer and O. Simon. (2002): Influence of the probiotic strain *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the development of enterobacterial growth and on selected parameters of bacterial metabolism in digesta samples of piglets. J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr., 86: 42-54.

Noverr, M. C., and G. B. Huffnagle. (2004): Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? Trends Microbiol. 12:-562-568.

Perdigón, G. R., R. Fuller, and R. Raya. (2001): Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. Curr. Issues Intest. Microbiol. 2: 27-42.

Pickard, K. M., A. R. Bremner, J. N. Gordon, and T. T. MacDonald. (2004): Immune responses. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 18: 271-285.

Scharek, L., J. Guth, M. Filter, and M. F. Schmidt. (2007): Impact of the probiotic bacteria *Enterococcus faecium* NCIMB10415 (SF68) and *Bacillus cereus* var. *toyoi* NCIMB 40112 on the development of serum IgG and faecal IgA of sows and their piglets. Arch. Anim. Nutr. 61:223-234

Simon, O., A. Jadamus, and W. Vahjen. (2002): The secret life of a probiotic Bacillus. Feed Mix 10 (6):1-5

Stewart, C. S., K. Hillman, F. Maxwell, D. Kelly, and T. P. King. (1993): Recent advances in probiosis in pig: observations on the microbiology of the pig gut. In: Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Taras, D., W. Vahjen, M. Macha, and O. Simon. (2005): Response performance characteristics and fecal consistency to long-lasting dietary supplementation with the probiotic strain *Bacillus cereus* var. *toyoi* to sows and piglets. Arch. Anim. Nutr. 59: 405-417.

VON A BIS Z
TIERISCH GESUND!
AJINOMOTO
AJINOMOTO ANIMAL NUTRITION
AJINOMOTO EUROLYSINE S.A.S.
Essentielle Aminosäuren
AVIZANT
Natürliche Carotinoide
AVIXANTHIN
Stabilisiertes Canthaxanthin
CARNIKING
L-Carnitin - für den optimalen Energiestoffwechsel
CuxAcid
Spezifische Säuremischungen
cuxArom
Aromen und Süßstoffe
CUXAVIT
Vitamine und Provitamine CUXAVIT ß-Carotin - für verbesserte Fruchtbarkeit
Loprotin
Der pansenstabile Zink-Methionin-Komplex
LOVIT
Formulierungen für die kurzzeitige Supplementierung über Trinkwasser
LOXIDAN
Antioxidantien Blends
Microbisan
Mikroverkapseltes Milchsäure-Probiotikum
Spicemaster
Kombination aus spezifischer Braunalge mit Kräutern und Gewürzen
ToyoCerin
Hitzestabiles Probiotikum aus Bazillus-Sporen
Zinteral
Optimierte Zinkoxid-Formulierung
ZY
NSP-spaltende Enzyme und Phytase
LOHMANN ANIMAL HEALTH GmbH & Co. KG
Heinz-Lohmann-Str. 4 · D-27472 Cuxhaven · Tel. 0 47 21 - 747 0 · Fax - 747-124 · www.lah.de
LAH
LOHMANN ANIMAL HEALTH

Cernivet® LBC ME 10 - Probiotikum in Pharmaqualität - Review - verschiedene Wirksamkeitsstudien

F. Reisenberger[1] und C. Isenburg[2]

[1]Reisenberger GmbH, Perchtoldsdorf, Austria
[2] Cerbios-Pharma S.A., Barbengo, Switzerland

Einleitung

Die Gruppe der Probiotika hat in den letzten Jahren - bedingt durch den völligen Verzicht auf antibiotische Leistungsförderer - eine große wirtschaftliche Bedeutung erlangt. Probiotika sind lebende mikrobielle Futterzusatzstoffe, welche das Wirtstier durch Verbesserung des intestinalen mikrobiellen Gleichgewichts positiv.beeinflussen (Fuller R. 1989). Probiotische Futtermittelzusatzstoffe werden heute in der Regel als „Darmflora-Stabilisatoren" eingestuft, wobei ihr Einsatz auch auf all jene (Sekundär-) Wirkungen zielt, welche von einer gesunden Darmflora abhängig sind.

Die Tierproduktion steht unter wirtschaftlichem Druck. Hohe Leistungen bei Zucht- und Masttieren werden gefordert. Eine Voraussetzung dafür sind intakte Verdauungs- und Absorptionsvorgänge = gesunder Darm. Bedingt durch Stress, dem vor allem junge Tiere ausgesetzt sind, kommt es häufig zu Veränderungen in der Darmflora, welche die Gesundheit und Leistung der Tiere beeinträchtigen.

Ein Probiotikum der ersten Stunde ist das Produkt Cernivet® LBC, hergestellt von der Firma Cerbios–Pharma SA, Barbengo, Schweiz. Cernivet® LBC enthält lebende Mikroorganismen des Stammes *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 (EU Zulassung: E 1705).

Es handelt es sich bei diesen Mikroorganismen um Milchsäurebakterien in Form von gram-positiven Kokken, welche zur physiologischen Darmflora von Mensch und Tier gehören. Diese werden bei Cerbios-Pharma SA unter cGMP Bedingungen kultiviert und mit speziellen Verfahren getrocknet. Der dabei entstehende Wirkstoff (*E. faecium* SF68®) hat Pharma-Qualität und wird auch in der Humanmedizin zur Regulierung der Darmflora eingesetzt.

Wir wollen in diesem Beitrag die Wirkungen von Cernivet® LBC auf die Tiergesundheit von Geflügel, Ferkeln und Muttersauen zusammenfassen.

Entscheidend für die Wirksamkeit eines Probiotikums sind folgende Eigenschaften, dargestellt am Beispiel Cernivet® LBC:

Biologische Eigenschaften

- ✓ SF68 ist nicht toxisch und nicht entheropathogen für Mensch und Tier.
  Der Beweis wurde für die EU-Zulassung als Futtermittelzusatzstoff bzw. für die Zulassung als Pharmaspezialität in der Humanmedizin erbracht.
- ✓ Hohe Säureressitenz von SF68 (Magenpassage). (Lewenstein A. et al. 1979)
- ✓ Kurze Replikationszeit - Schnelles Wachstum. (Lewenstein A. et al., 1979)
- ✓ Förderung der positiven Darmflora (Zunahme der Laktobazillen und Reduktion von Colikeimen). (Spieler A., and K. Männer. 1996)
- ✓ Produktion von L-Milchsäure und bakteriozinähnlichen Substanzen. (Lewenstein A. et al. 1979)
- ✓ Stimulierung des Immunsystems. (Benyacoub, J. et al. 2003)

Technische Eigenschaften

- ✓ Schnelle Verfügbarkeit
  Die Produktionsbedingungen von Cernivet® LBC sind so ausgewählt, dass die Bakterien bereits im oberen Darmabschnitt aktiv werden. Dies ist besonders wichtig, weil gerade im oberen Darmabschnitt die Keimzahl im Vergleich zum unteren Darmabschnitt um das millionenfache geringer ist. Der obere Darmabschnitt stellt jedoch die Haupteintrittspforte für unerwünschte Keime dar.

- ✓ Hohe Stabilität von Cernivet® LBC ME10
  Aufgrund eines von Cerbios-Pharma entwickelten Verfahrens der sogenannten Mikroverkapselung werden die probiotischen Keime vor Druck und hohen Temperaturen geschützt und können somit auch in pelettiertem Futter eingesetzt werden. Die Pelletierbarkeit wurde anlässlich der EU Registrierung geprüft.

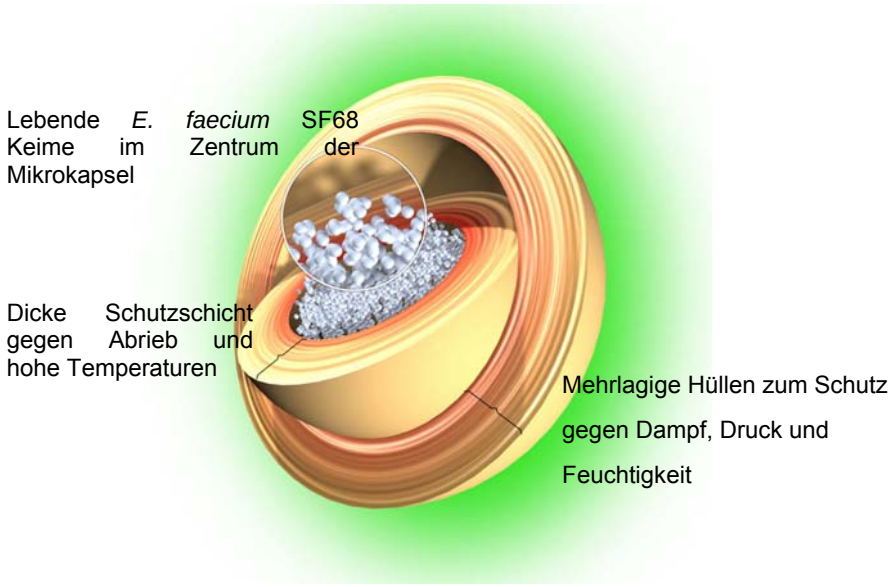


Abb. 1: Aufbau einer Mikrokapsel von Cernivet® LBC ME10

Zielsetzung für die in der Folge angeführten Versuche

Versuche bei Broilern sowie bei Zuchtsauen und ihren Ferkeln sollten die Wirkung auf

- die Salmonellenkontrolle bei Broilern,
- die Ferkelverluste,
- das Wachstum und die Futterverwertung bei Ferkeln und
- die Übertragungsrate von Chlamydien von den Sauen auf die Ferkel aufzeigen.

Wirkung von Cernivet® LBC G35 bei Broilern

Es ist bekannt, dass man mit *E. faecium* SF68 Salmonellenausscheider bei Menschen behandeln kann. Dies wurde bereits 1982 publiziert (Schiraldi O. et al. 1982).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass bei einer Behandlung mit dem Stamm SF68 nach 10 Tagen 100% der Koprokulturen Salmonellen-negativ waren.

Ob das Produkt Cernivet® LBC G35 auch bei Broilern eine entsprechende Wirksamkeit hat, sollte im gegenständlichen Versuch getestet werden.

Material und Methoden

(Ref.: Schwarzer Ch. 1993)

Ort: Tiergesundheitsdienst Bayern, D-8011 Grub (Dr. Schwarzer, Dr. Gangl, Prof. Dorn)

Jahr: 1991

Tiere:Kommerzielle Mastküken in Bodenhaltung

Versuchsdauer: 35 Tage

Versuchsprodukt:LBC G35

Dosierung Trinkwasser:Tag 1 - 7 20gLBC G35 / 100 l

Dosierung Futter:Tag 1 - 35100gLBC G35 / t

Salmonella Infektion:Tag 3 (Infektion mit *S. enteritidis* B 1140 N)

1 x 10^4 cfu / Broiler in den Kropf

Ergebnis

(Ref.: Schwarzer Ch. 1993)

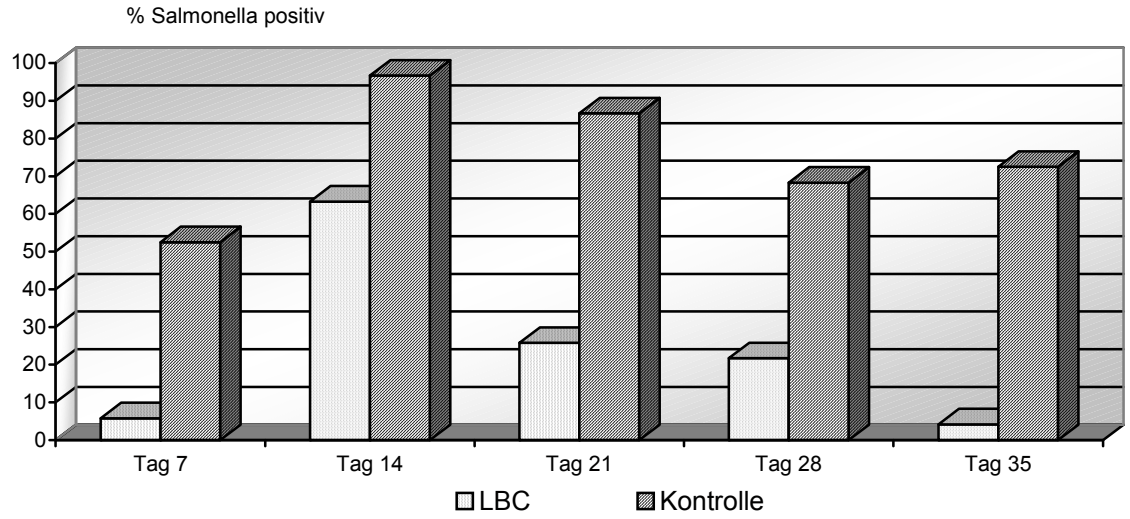


Abb. 2: Resultat der Kloakentupferuntersuchungen

Diskussion

Durch die Verabreichung von LBC konnte im oben beschriebenen Versuch die Ausscheidung der Salmonellen signifikant ($p<0.01$) reduziert werden.

Wirksamkeit von Cernivet® LBC ME10 bei laktierenden Sauen und Ihren Ferkeln

1. Reduzierung der Ferkelverluste

Im anschließend beschriebenen Versuch wurde geprüft, ob durch den Einsatz von Cernivet® LBC ME 10 im Sauen- und Ferkelfutter die Ferkelverluste während der Laktation und der Aufzucht reduziert werden können.

Material und Methoden

(Ref.: Baron F. and Guyonvarch A. 2001)

Ort: Frankreich

Jahr: 2001

Tiere:2 x 26 Sauen und ihre Würfe (13 Sauen in Kontrollgruppe, 13 Sauen in der Versuchsgruppe)

Versuchsdauer: 84 Tage

Versuchsprodukt:LBC ME10

Sauen:14 Tage vor dem Abferkeln bis zum Ende der Laktation

Ferkel:1. bis zum 70. Lebenstag

Fütterungsplan:Kontrollfutter Sauen und Kontrollfutter Ferkel

LBC-Futter Sauen (70 ppm) und Kontrollfutter Ferkel

Kontrollfutter Sauen und LBC-Futter Ferkel (70 ppm)

LBC-Futter Sauen (70 ppm)und LBC-Futter Ferkel (70 ppm)

Ergebnisse

(Ref.: Baron F. and Guyonvarch A. 2001)

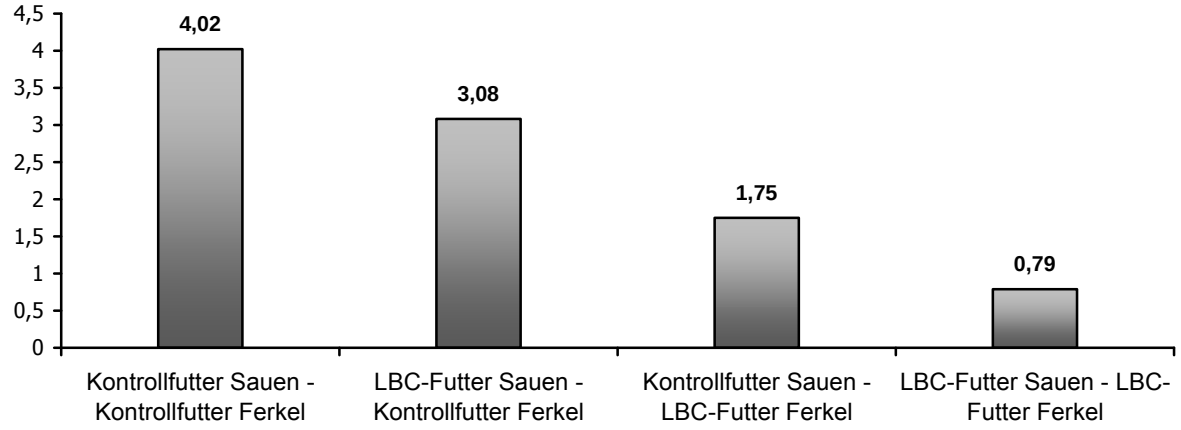


Abb. 3: Ferkelverluste 21. – 70. Lebenstag (in %)

Diskussion

Im vorliegenden Versuch konnte bewiesen werden, dass Cernivet® LBC, verabreicht im Sauenfutter,

die Ferkelverluste absenken kann. Bei Verwendung von Cernivet® LBC sowohl im Sauenfutter, als auch im Ferkelfutter konnten die Ferkelverluste weiter reduziert werden ($p<0.01$).

2. Erhöhung der Zuwachsrate und der Futterverwertung in der Nach-Absetz-Phase bei Ferkeln

Im anschließend beschriebenen Versuch wurde geprüft, ob durch den Einsatz von Cernivet® LBC ME 10 im Sauen- und Ferkelfutter die täglichen Zunahmen und die Futterverwertung nach dem Absetzen der Ferkel beeinflussen kann.

Material und Methoden

(Ref.: Le Dividich, J. 2002)

Ort: Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) - France

Jahr:2001

Tiere:24 Sauen und ihre Würfe (266 Ferkel)

Versuchsdauer: 11 Wochen

Versuchsgruppen:Negative Kontrolle (Sauen und Ferkel)

LBC ME10(Sauen und Ferkel)

LBC Dosierung Sauen:0,7 x 10^9 cfu/kg Futter 10-12 Tage vor dem Abferkeln bis zum Absetzen

LBC Dosierung Ferkel:1.0 x 10^9 cfu/kg Futter von 2 Wochenalter bis 2 Wochen nach dem Absetzen

0,7 x 10^9 cfu/kg Futter von 2 Wochen nach dem Absetzen bis Versuchsende

Ergebnisse

(Ref.: Le Dividich, J. 2002)

Die Ferkelsterblichkeit während der Säugezeit betrug 19,6% bei den Kontrolltieren und 12,7% bei den Versuchstieren (-35.2%; $p < 0,05$)

Abb. 4: Durchschnittleiche Zuwachsraten in der Nach-Absetz-Phase von Ferkeln

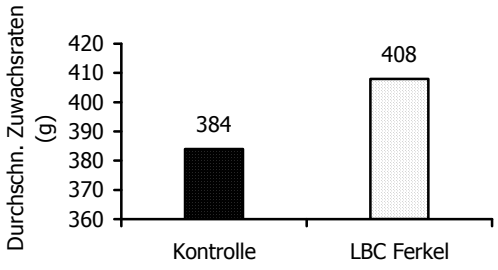
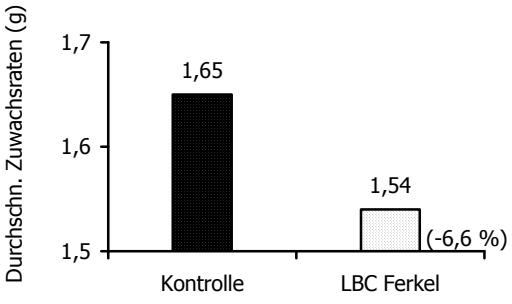


Abb. 5: Futterverwertung in der Nach-Absetz-Phase von Ferkeln



Diskussion

Im vorliegenden Versuch konnten die Zuwachsraten und die Futterverwertung durch Verabreichung von Cernivet® LBC ME 10 bedeutend verbessert werden.

Die Ferkelsterblichkeit während der Säugezeit konnte signifikant reduziert werden ($p < 0,05$).

3. Wirkung von Cernivet® LBC ME 10 auf die Rate der natürlichen Chlamydieninfektionen bei Ferkeln

Im anschließend beschriebenen Versuch wurde geprüft, ob durch den Einsatz von Cernivet® LBC ME 10 die Uebertragungsrate von Chlamydien von den Sauen auf die Ferkel beeinflusst werden kann.

Material und Methoden

(Ref.: Pollmann, M. et al. 2005)

Ort: Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Freie Universität Berlin – Germany
Institut für Veterinärpathologie, Universität Zürich - Switzerland

Jahr:2005

Tiere:22 Sauen (Hybrid Landrasse x Duroc) und ihre Würfe

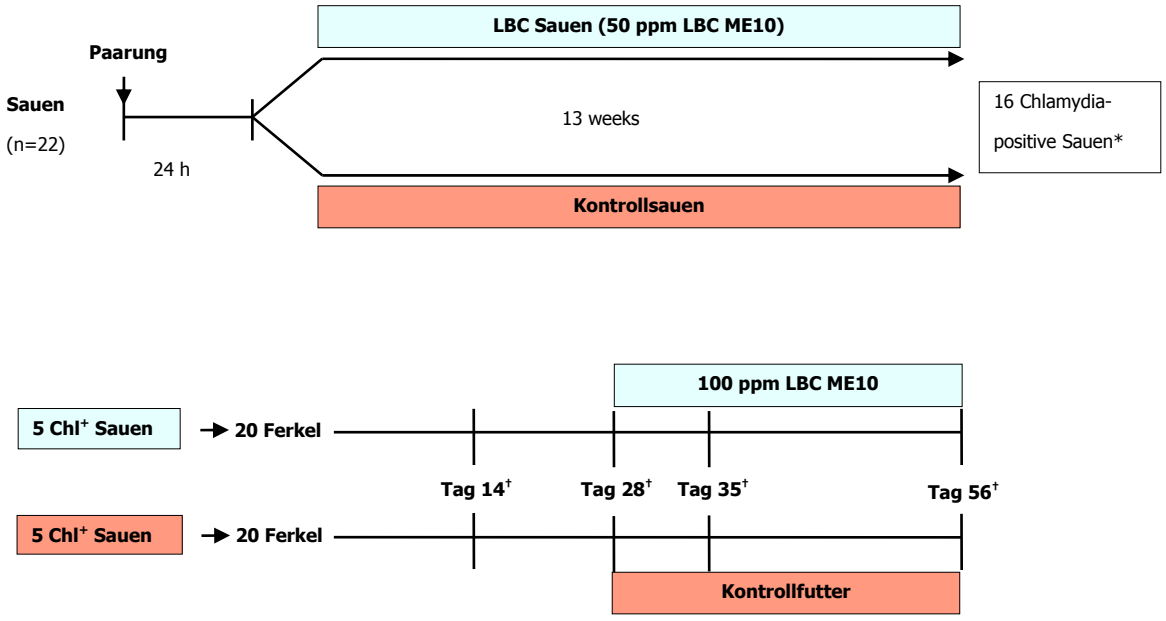
Versuchsdauer:

Sauen:13 Wochen

Ferkel:8 Wochen

Versuchsgruppen:Negative Kontrolle (Sauen und Ferkel)

LBC ME10 (Sauen – 50 mg /kg Futter);(Ferkel – 100 mg/kg Futterl)



* = 3 unabhängige Stuhlproben/Sau ; † = 5 Ferkel/Gruppe geschlachtet

Abb. 6: Versuchsablauf:

Ergebnisse

(Ref.: Pollmann, M. et al. 2005)

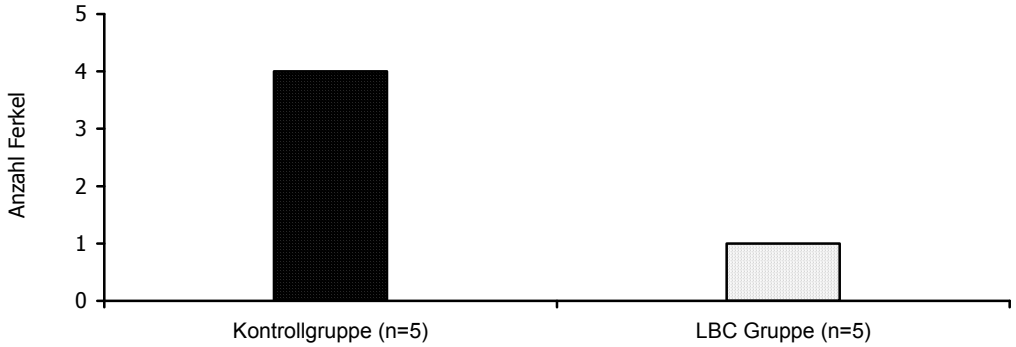


Abb. 7: Anzahl Chlamydien-positiver Ferkel in Alter von 14 Tagen

Diskussion

Im vorliegenden Versuch konnte gezeigt werden, dass durch die Verabreichung von Cernivet® LBC, die Uebertragungsrate von Chlamydien von den Sauen auf die Ferkel signifikant (p= 0,05) reduziert werden kann.

Literaturverzeichnis

Baron F., and A. Guyonvarch A. 2001. Influence de l'incorporation d'un probiotique (LBC ME10) dans l'aliment sur les performances zootechniques sur truies et porcelets en post sevrage. France.

Benyacoub, J. et al. 2003. Supplementation of Food with Enterococcus faecium (SF68) Stimulates Immune Functions in Young Dogs. J. Nutr. 133: 1158-62.

Fuller R. 1989. Probiotics in Man and Animals. J. Appl. Bact. 66: 365-378.

Le Dividich, J. 2002. Effect of a probiotic (LBC ME10; *Enterococcus faecium* NCIMB 10415) on the birth to slaughter performance of pigs. France.

Lewenstein A. et al. 1979. Biological properties of SF68, a new approach for the treatment of diarrheal diseases. Curr. ther. Res. 26:967-981

Pollmann, M. et al. 2005. Effects of a Probiotic Strain of Enterococcus faecium on the Rate of Natural Chlamydia Infections in Swine. Infecct Immun. 73:4346-4353

Schiraldi, O. et al. 1982. Le traitement par Streptococcus faecium des porteurs asymptomatiques de Salmonelles. Méd. et Hyg. 40:445-446.

Schwarzer, C. 1993. Reduction of Salmonella Shedding by Probiotics: Properties of an *Enterococcus faecium* preparation for Metaphylactic Use. In: "Prevention and Control of Potentially Pathogenic Microorganisms in Poultry and Poultry Meat Processing". Proceedings of a meeting held at Vedbaek/Denmark, May 13-15.

Spieler A., and Männer. K. 1996. Milchsäurebakterien als probiotischer Futterzusatzstoff. Feed Magazine. 5:200-207.

Toit du M. et al. 1998. A Modified Continuos Flow Culture System for Studying Microbial Interactions Related to the Gastro-Intestinal Tract: Application of the Probiotic Organism *Enterococcus faecium* SF68. Bioscience Microflora Vol. 17 (1), 41-47.

Autorenanschrift

Ing. Franz Reisenberger
Reisenberger GmbH
Stuttgarterstraße 2
A-2380 Perchtoldsdorf
office@reisenberger.com

Effect of live yeast on rumen fermentation parameters in dairy cattle over a 4-week period

S. Roth[1], C. Scheidemann[1], H. Steingass[2], K. Staudt[2], S. Andrieu[3]

[1] Alltech (Deutschland) GmbH, Norderstedt, Germany
[2] University of Hohenheim, Germany
[3] Alltech Biotechnology Centre, Dunboyne, Irland

Introduction

In the rumen, feed digestion involves a variety and complex interactions between different microbial anaerobic communities (bacteria, fungi, protozoa), which enable the ruminant to benefit from the diet. However, in today's practise several factors (e.g. high concentrate diets) may affect the microbial balance and digestive troubles can occur (e.g. ruminal acidosis) which can lead to an alteration of health and performance. Live Yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) are used and proven in ruminant diets with the aim to optimise feed utilisation and rumen functions, and therefore the interest in live yeast culture in cow nutrition has grown and a great demand for both lactation and growing ruminants has been reported already in the mid nineties (Newbold, 1995). Yeast stimulates the proliferation and activity of fibre digesting bacteria and lactic acid utilizing bacteria in the rumen. The mode of action which involves scavenging oxygen from the rumen and removing lactic acid has been thoroughly researched. The effect is to both raise rumen pH reducing acidosis, and to increase the rate of digestion of the diet, particularly of fibre, consequently increasing total dry matter intake by 1kg - 2kg per cow. Increased rumen bacterial activity creates up to 15% more microbial protein. (Further details on mode of action see also Paper "Effect of live yeast on milk production of high-yielding dairy cows under German conditions" by S. Roth, C. Scheidemann, H. Steingass & S. Andrieu).

Material and Methods

Animals and ration

Two ruminally-canulated Holstein cows, which were individually held in boxes with shaving, were individually fed and adapted to a standard TMR for 16 days prior to the trial. The TMR was not modified during the trials and was fed ad libitum twice a day. After the control period (total 16 days) the cows received live yeast in the concentrated feed for 28 days. 500 g of feed was offered twice a day at 8 a.m. and 4 p.m.

- Control period = Last 3 days of the adaptation period
- Sc period = period over which Sc (Live Yeast *Saccharomyces cerevisae* CBS 493.94 (Yea-Sacc®1026/Alltech Inc.) is fed (4wks) at 10 g/head/day (minimum $1x10^9$ CFU/head/day) in the concentrate

TMR ingredients (% of DM) were corn silage (20 %), grass silage (17.3 %), hay 1st cut (6.3 %), hay 2nd cut (14.2 %), beet pulp with molasses (4.7 %), mineral/vitamin premix (0.8 %) & concentrated feed (26.3 %).

Table 1: Ingredient composition of TMR and concentrated feed

	DM %	CA	CL	CP	CF	dOM	MJ NEL/ Kg DM	MJ ME/ Kg DM
		---------- % of DM ----------						
TMR	92.85	8.61	3.04	15.36	16.55	77.09	6.89	11.19
Concen-trate	93.97	6.76	3.69	21.62	5.48	85.16	8.09	12.89

Sample Collection and preparation

TMR

Samples of TMR were taken 3 times a week to determine DM and changes in the chemical composition. Samples were dried at 60°C for three days to calculate the air dry matter. For further analyses the samples were ground in a cutting mill with a screen opening of 0.75 mm, the three samples were then combined for a one weekly sample. The ingredients of these ground feeding stuffs were analysed in the Hohenheim Gas Test (HFT) (Steingass and Menke, 1986) and Weender analysis (Naumann et al., 1976).

Rumen Fluid

Samples of rumen fluid were taken 1 hour before feeding and 1, 3, 5 and 7 hours after feeding. After 12 days the sampling was started on the three following days as a control values. After receiving live yeast, samples were collected on 2 consecutive days each week to the next 4 week. Through the fistula the rumen fluid, 200 – 400 ml, was affiliated at a pump and filtered through gauze. Rumen fluid was centrifuged for 20 min. at about 4°C near 3500 rpm. Then, 5 ml of the supernatant was mixed with 45 ml aqua bidest. A part of the supernatant was filled up for analysing VFA- and lacticacid concentration and was frozen at -18 °C.

Measurements

NH_3-Measuring

The application flow was nearly the same using compilation of a calibration array. Indeed, the preparation solution consisted of 40% NaOH-dilution. Then the measurement of NH_3 was measured with a gas- and ion-selective electrode in mV. From theses values the gadget concentrations were calculated, because they were correlated for a proportional logarithmic percentage.

VFA-Measuring

The deep frozen 5 ml sample tubes were defrosted and 1 ml of rumen fluid was mixed with 0.1 ml internal standard solution (2,5 ml 2 methylvalerianic acid/100 ml conc. formic acid). Afterwards this assay was filled in an ampulla for injection. This analysis was carried out with a gas chromatograph (Hewlett Packard) with Flame Ionisation Detection (FID), so that a certain retention time the VFA could be identified. The quantity was defined with the help of the intensity of the detector signal. Finally, a VFA-standard was used for evaluation.

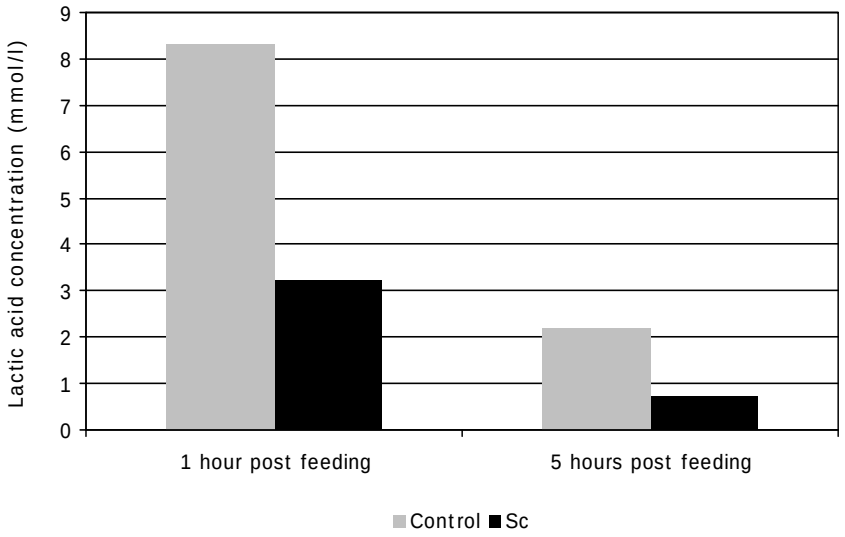
D+L-lactic-acid measuring

D-Lactate was oxidised in the presence of D-lactate dehydrogenase (D-LDH) by use of NAD in pyruvate. For oxidation of L-lactated it was necessary for L-LDH. During the reaction the accumulated NADH-H amount was equivalent to the l- and D-lactate amount. NADH-H, was measured photometrically at 340 nm.

Results and Discussion

Lactic acid levels

Lactate levels were lower than detectable 1 h before and 7 h after feeding in all treatments. Sc addition resulted in a reduced lactate concentration with the greatest reductions reached in weeks 2-4 of the experimental period. Average lactate significantly decreased when Sc was fed ($p<0.05$) both at 1 and 5 h after feeding (8.3 vs 3.2 1h post-feeding and 2.2 vs 0.7 mmol/l at 5h post-feeding respectively for control and treatment) (see Graph 1).



Graph 1: Effect of live yeast (Sc) on lactic acid concentration (mmol/l)

These results are in accordance to other studies which showed that yeast culture improved lactate utilisation (Williams, 1991; Erasmus, 1992; Callaway, 1997; Doreau, 1998) through *Selenomonas ruminantium* and *Megesphaera elsdenii* and tended to lower the average concentration of rumen lactic acid significantly.

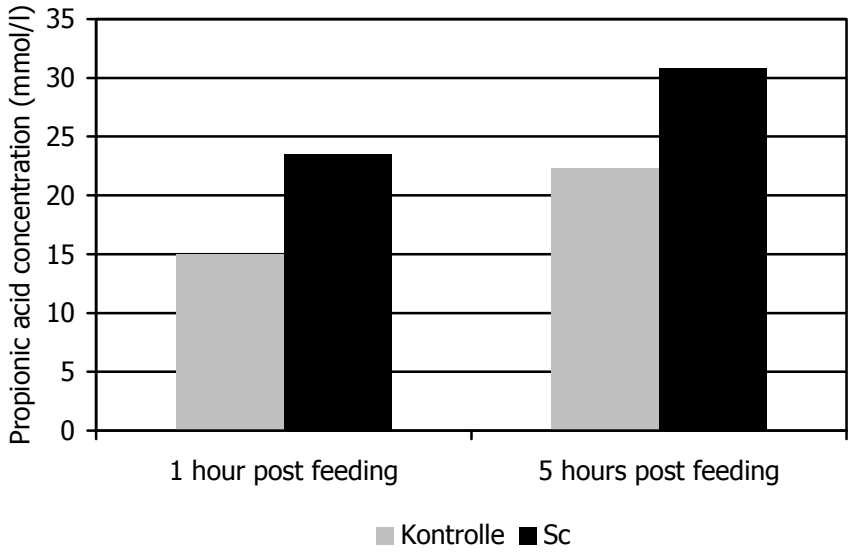
Total VFA

Live yeast in general has little effects on total ruminal VFA concentration (Chademana, 1990; Williams, 1991; Plata, 1994;Chiquette, 1995; Newbold, 1995; Putnam, 1997). In this study no effect of Sc supplementation length on total VFA concentration after feeding occurred. However, total VFA quantities tended to increase after feeding with a maximum value at 3 to 5 h after feeding time for both control and Sc periods. A trend, however, towards increased VFA concentration can be observed since yeast cultures generally stimulate propionate and acetate synthesis (Edwards, 1991, Erasmus, 1992) some hours after feeding.

Individual VFA

Sc effect on acetate concentration in this trial showed a trend to a slight reduction without being significantly different, whereas the average propionate concentration over the Sc feeding period was numerically higher than control (see Graph 2). Therefore Sc supplementation tends to reduce acetate/propionate ratio (A/P) suggesting that fermentation efficiency is increased and methane production is reduced with resulting increases in energy available for milk production.

A statistically significant reduction of the A/P is confirmed by other results (Chademana, 1990; Williams, 1990; Erasmus, 1992; Plata, 1994; Chiquette, 1995; Putnam, 1997) and it indicates that yeast culture might have an effect on fermentation stoichiometry in the rumen. The lactate utilising bacteria are facilitated, which means a better lactic acid utilisation and an increase of propionate production over oxaloacetate (Nisbet, 1991; Girard, 1994).



Graph: Effect of live yeast (Sc) on propionic acid concentration (mmol/l)

Ammonia

Ammonia levels were numerically decreased with Sc addition at 1 and 3 h post-feeding (13.2 vs 12.5 at 1 h post-feeding and 13.2 vs 11.7 at 3 h post-feeding for control and Sc respectively). This difference reached significance at 1 and 3 h post-feeding sampling time in week 4 on the experimental period ($p<0.05$). According to Giger-Reverding (1996) the ammonia in the rumen is used for a better bacteria growth and a decrease of the concentration in the rumen. It seems to take place almost directly after feeding if a maximum of ammonia is present. The better transformation of feed and stimulated bacterial ecosystem may be responsible for the conversion of ammonia into microbial protein.

Conclusion

This experiment has shown that Sc supplementation can alter microbial activity in the rumen as indicated by changes in VFA levels, decreasing lactate and increasing propionic acid concentrations and raising ammonia absorption. Sc supplementation therefore stimulates the digestive activity of rumen microorganisms and increases the efficiency of food utilisation for growth and milk production. In conclusion this experiment has demonstrated that Sc supplementation can have a positive impact on rumen fermentation parameters.

Literature

Callaway, E.S. & S.A. Martin (1997): Effect of a Saccharomyces cerevisiae culture on the ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. J. Dairy Sci. 80: 2035-2044.

Chademana, I. and N.W. Offer (1990): The effect of dietary inclusion of yeast culture on digestion in the sheep. Anim. Prod. 50:483-489.

Chiquette J. (1995): Saccharomyces cerevisiae and Aspergillus oryzae, used alone or in combination, as a feed supplement for beef and dairy cattle. Can. J. Anim. Sci. 75: 405-415.

Doreau (M.) & J.P. Jouany (1998): Effect of a Saccharomyces cerevisiae culture on nutrient digestion in lactating cows. J. Dairy Sci. 81: 3214-3221.

Edwards, E. (1991): Practical uses of yeast culture in beef production: Insight into its mode of action. In: Proceedings of Alltechs 7th Annual Symposium on biotechnology in the feed Industry (T.P. Lyons, and K.A. Jacques, eds.). Nottingham Universtiy Press, Nottingham, UK, pp. 51-63.

Erasmus, L.J., P.M. Botha & A. Kistner (1992): Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. J. Dairy Sci. 75: 3056-3065.

Giger-Reverdin, S., N. Bezault, D. Dauvant & G. Bertin (1996): Effects of a probiotic yeast in lactating ruminants: interaction with dietary nitrogen level. Anim. Sci. Feed. Technol. 63: 149-162.

Girard, I.D. & K.A. Dawson (1994): Effect of a yeast culture on the growth characteristics of ruminal bacteria. J. Anim. Sci. 72 (Suppl. 1): 300.

Newbold, C.J. (1995): Microbial feed additives for ruminants. In: Biotechnology in animal feeds and animal feeding (Chesson A., Wallace R.J. eds.) VCH, Weinheim, Germany, 259-278.

Nisbet, D.J. & S.A. Martin (1991): Effect of Saccharomyces cerevisiae culture on lactate utilization by the ruminal bacterium Selenomonas ruminatium. J. Anim. Sci. 69: 4628-4633.

Plate, F., Mendoza, G.D., Barcena-Gama, J.R. and S.M. Gonzales (1994): Effect of yeast culture on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. Anim. Feed Science and Technology 49: 203-210.

Putnam, D.E., Schwab, C.G., Socha, M.T., Whitehouse, N.L., Kierstead, N.A. and B.D. Garthwaite (1997): Effects of Yeast culture in the diet of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. J. Dairy Sci. 80: 374-384.

Steingaß, H. and Menke, K.-H. (1986) Schätzung des energetischen Futterwertes aus der in vitro mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse. 1. Unterschungen zur Methode. Übers. Tierernährung., 14, 251-270.

Williams, P.E.V., C.A.G. Tait, G.M. Innes & C.J. Newbold (1991): Effect of the inclusion of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. J. Anim. Sci. 69: 3016-3026.

Autorenanschrift

Dr. Susanne Roth & Dr. Christian Scheidemann
Alltech (Deutschland) GmbH
Mühlenweg 143
22844 Norderstedt
Deutschland
sroth@alltech.com
cscheidemann@alltech.com

Futterverwertung, Vertrauen,
Produktqualität, Hohe Leistur
Profitabilität, **Gesunde Tiere,**
Optimale Ausnutzung des Ge

Alltech ...natürlich

Gesündere Tiere bringen gesündere Leistung.

Seit nunmehr 27 Jahren forscht und entwickelt Alltech® natürliche Lösungen für die Tierernährung, die positive Effekte auf Gesundheit, Leistung und Produktivität unserer modernen Hochleistungstiere haben.

Alltechs erfolgreichste Produktmarken Yea-Sacc®1026, Sel-Plex®, Bioplex®, Bio-Mos®, Mycosorb® und Sil-All®4x4 geben ein einmaliges Beispiel dafür, wie natürliche Technologien, unterstützt von zielgerichteter Forschung, unsere Industrie in die Zukunft führen können ***...natürlich.***

Alltech® ...natürlich

Für weitere Informationen über die einzelnen Produkte von Alltech kontaktieren Sie uns bitte unter:
Alltech (Deutschland) GmbH • Mühlenweg 143 • 22844 Norderstedt • Deutschland
Tel.: +49 (0)40 694573-0, • Fax: +49 (0)40 694573-29
e-mail: deutschland@alltech.com
www.alltech.com/deutschland

Einsatz von Lebendhefe bei Hochleistenden Milchkühen unter deutschen Bedingungen

S. Roth[1], C. Scheidemann[1], H. Steingass[2], S. Andrieu[3]

[1] Alltech (Deutschland) GmbH, Norderstedt, Deutschland
[2] Universität Hohenheim, Stuttgart, Deutschland
[3] Alltech Biotechnology Centre, Dunboyne, Irland

Einleitung

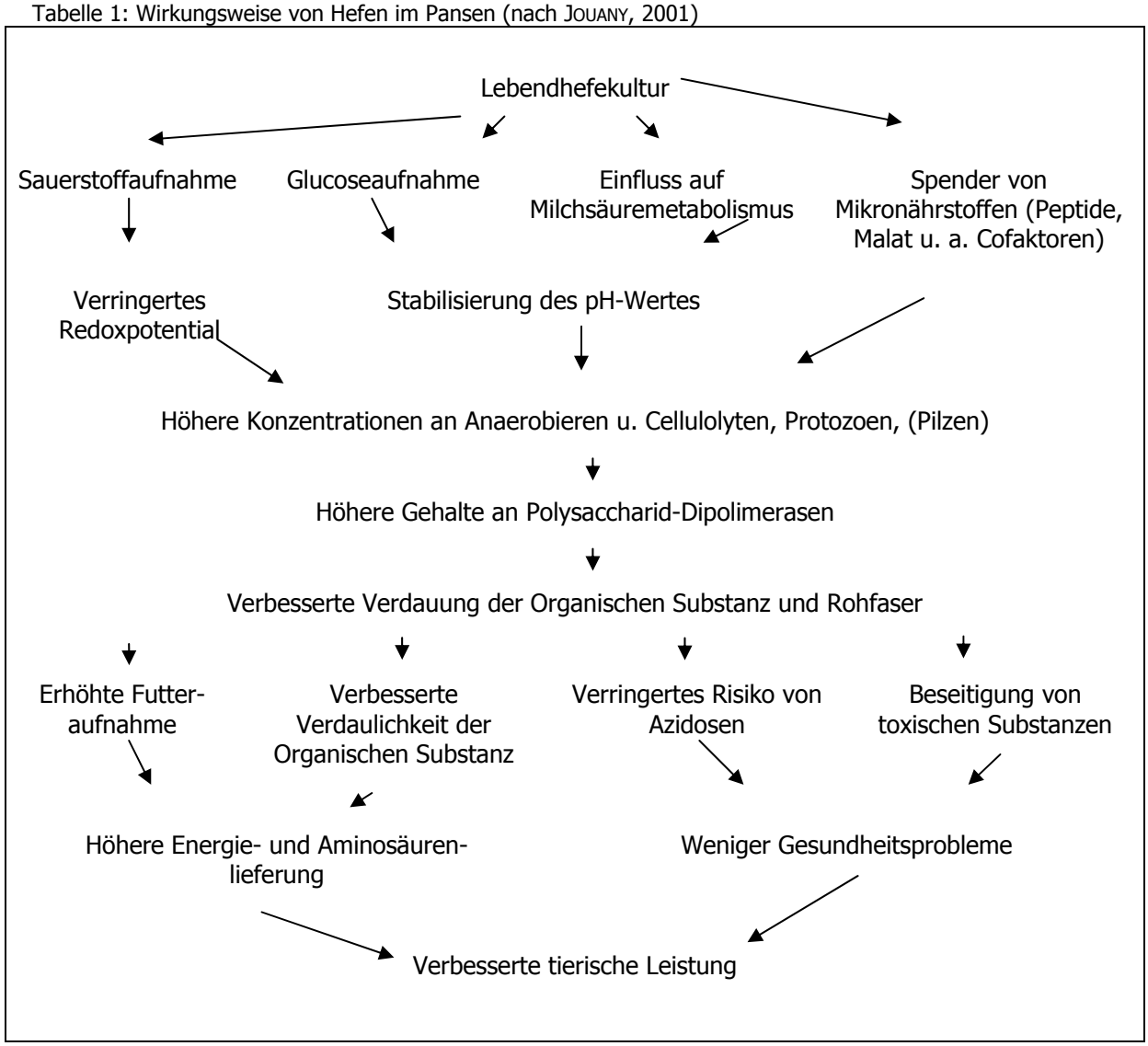
Das wichtigste Ziel bei der Fütterung unserer hochleistenden Milchkühe ist eine bedarfs- und wiederkäuergerechte Versorgung mit Energie, Nähr- und Wirkstoffen. Stetig steigende Milchleistungen, bei einer gleichzeitig begrenzten Futteraufnahmekapazität, machen es jedoch immer schwieriger, die Kühe mit einer wiederkäuergerechten Ration entsprechend ihres Bedarfs zu versorgen. Als Folge erhalten die Kühe häufig eine energiereiche Ration mit einem hohen Kraftfutteranteil und einem sich daraus ergebenden geringen Rohfasergehalt. Das hohe Angebot an schnellfermentierbaren Kohlenhydraten im Pansen und ein hoher Silageanteil in der Ration mit einem niedrigen pH-Wert lässt den pH-Wert des Pansensaftes häufig unter 6,0 absinken. Dies kann sich negativ auf die Verdauungsabläufe im Pansen auswirken. Verminderte Futteraufnahme, geringerer Zellwandabbau, metabolische Störungen, Minderleistungen sowie ein geringerer Milchfettgehalt und Fruchtbarkeitsstörungen sind häufig die Folge.

Mittlerweile gibt es verschiedene Ansätze, die Pansenflora zu beeinflussen. Viel diskutiert wird zurzeit der Einsatz von lebenden Hefen in der Wiederkäuerfütterung. Dabei beruht der Effekt der Lebendhefen auf einer Beeinflussung des Pansenmilieus. Durch den Einsatz kommt es laut verschiedener Autoren zu

- Wechselwirkungen zwischen metabolisch aktiven Hefezellen und der Mikrobenbesiedelung (Dawson und Girard, 1997)
- Anregung des Wachstums und der Anzahl von cellulolytischen und laktatverwertenden Bakterien (Martin & Nisbet, 1992; Wallace & Newbold, 1993; Dawson et al., 1990)
- Ausscheidung spezieller Nährstoff wie z.B. kurzkettige Peptide und Fettsäuren, Dicarbonsäuren, Vitamine, Aminosäuren und unbekannte Wachstumsfaktoren (Wiedmeier et al., 1987; Nisbet & Martin, 1991; Martin & Nisbet, 1992; Chaucheyras et al., 1995; Rossi et al., 1995; Girard, 1996 und Koul et al. 1998)
- Sauerstoffzehrende Wirkung und damit einhergehende Milieuverbesserung im Pansen (Ingledew, 1999)
- Höhere Verdaulichkeit der Ration (Maierhofer & Obermayer, 2002; Smith et al., 1993; Kumar et al., 1997; Jouany et al., 1998)

Die Wirkung von Lebendhefe lässt sich demnach laut Jouany (2002) in der Übersicht wir folgt darstellen und resultiert in einer verbesserten tierischen Leistung bei gleichzeitig weniger Gesundheitsproblemen.

Tabelle 1: Wirkungsweise von Hefen im Pansen (nach JOUANY, 2001)



Material und Methoden

Versuchsschema

Es wurden zwei Versuchsvarianten geprüft. Variante 1 ist die Kontrolle (K) und Variante 2 ist die mit der Lebendhefe *Saccharomyces cerevisiae* CBS 493.94 (Yea-Sacc®1026/Alltech Inc., USA) supplementierte Gruppe (Sc). Die Lebendhefe wurde in einem Anteil von 0,6 je kg Trockenmasse in einer Totalmischration (TMR) verabreicht. Dies entspricht bei einer täglichen Aufnahme von 20 kg TMR-Trockenmasse einer Hefemenge von 12 g ($1{,}2 \times 10^9$ KBE) je Kuh und Tag (Minimum 1×10^9

KBE/Tier/Tag). Beide Gruppen erhielten eine ansonsten identische TMR zur freien Aufnahme. Die Supplementierung der Hefe begann mit der Vorbereitungsfütterung 21 Tage vor dem erwarteten Abkalbetermin. Die Versuchsperiode erstreckte sich bis zum Tag 200 der nachfolgenden Laktation.

Tiere

Die Versuchskühe (Deutsche Holstein) wurden aus der Herde der Versuchsstation für „Nutztierbiologie und ökologischen Landbau" der Universität Hohenheim (Herdenleistung ca. 10.200 g Milch, 4% Fett, 3,3% Eiweiß) ausgewählt und nach den Kriterien Laktationsnummer (1 und höher), Milchleistung der vorausgegangenen Laktation und Milchleistung der Mutter (bei Jungkühen) auf die beiden Gruppen wie folgt verteilt: Kontrollgruppe: 23 Kühe (10 in der ersten Laktation, 6 in der zweiten, 5 in der dritten und je 1 Kuh in der vierten und fünften Laktation; durchschnittliche Laktations-Nr.: 2,0). Versuchsgruppe: 22 Kühe (9 Erstlaktierende, 6 in der zweiten Laktation, 1 in der dritten, 2 in der vierten, 3 in der fünften und 1 in der sechsten Laktation; durchschnittliche Laktations-Nr.: 2,4). Von einem einheitlichen Leistungspotenzial in beiden Gruppen kann ausgegangen werden.

Fütterung

Alle Kühe wurden mit der gleichen TMR versorgt, die 1 Mal pro Tag zur ad libitum Aufnahme vorgelegt wurde. Die TMR bestand (% d. Trockenmasse) aus 22,4% Maissilage, 20,0% Grassilage, 13,3% Heu, 2,5% Melasseschnitzel, 2,9% Mineralfutter und 38,9% eines selbst hergestellten Milchleistungsfutters (30% Weizen, 20% Mais, 13% Sojaextraktionsschrot, 13% Gerste, 7% Erbsen, 6% Rapsextraktionsschrot, 5% Sonnenblumensaat, 4% Ackerbohnen sowie 2% weitere Komponenten in wechselnder Zusammensetzung wie Lupinen, Maiskleberfutter, Palmexpeller und Zitrustrester). Um eine ausreichende Durchmischung und gute Futteraufnahme zu gewährleisten, wurden der TMR 11% Wasser zugesetzt. Zusätzlich erhielt jede Kuh 2 kg Milchleistungsfutter pro Tag über den Kraftfutterautomaten. Dieses enthielt während der Transitphase (von der 3. Woche a.p. bis zur 3. Woche p.p.) höhere Gehalte an nutzbarem Rohprotein und eine spezifische Wirkstoffvormischung.

Die gemittelten Analysenwerte der TMR und der Kraftfutter sind in Tabelle 2 dargestellt. Die TMR stellt eine bedarfsdeckende Versorgung der Kühe für 33 kg Milchleistung sicher, wenn davon ca. 20 kg TM aufgenommen werden.

Tabelle 2: Rohnährstoffzusammensetzung und Energiegehalt der Futtermittel

	n	TM g/kg	XP g/kg T	nXP g/kg T	XF g/kg T	NEL MJ/kg T
TMR Kontrollgruppe	7	425	148	148	166	6,7
TMR Versuchsgruppe (Sc)	7	425	149	149	164	6,7
Milchleistungsfutter	7	892	207	198	56	8,7
Kraftfutter Laktationsstart	2	851	258	232	74	7,5

Probenahme und Messparameter

Futter

Von der TMR wurde drei Mal wöchentlich eine Probe zur Trockenmassebestimmung entnommen, die zu einer Sammelprobe pro Woche vereinigt wurde. Darin erfolgte monatlich die Bestimmung der Rohnährstoffgehalte nach der Weender Analyse und des Energiegehaltes nach dem Hohenheimer Futterwerttest. Von jeder Charge der Kraftfutter wurden ein Mal Proben entnommen und auf die entsprechenden Kennzahlen untersucht.

Kühe

Bei jeder Kuh wurde täglich (individuell) die Aufnahme an TMR und Kraftfutter sowie die Milchleistung und die Lebendmasse erfasst. Alle 14 Tage wurde eine Milchprobe als Aliquot aus Abend- und Morgengemelk genommen und auf die Gehalte an Fett, Gesamtprotein (N x 6,38), Lactose, Harnstoff und somatische Zellen durch den Milchprüfring Baden-Württemberg untersucht.

Statistische Auswertung

Bei den laktierenden Kühen wurde aus den täglichen Einzelbeobachtungen während der 200-tägigen Versuchsperiode zunächst 10 Tage umfassende Mittelwerte der beobachteten Parameter für jede Kuh und jede Behandlung berechnet. Von den Tagesdaten der trockenstehenden Kühe in der Vorbereitungsfütterung wurden 5-Tagesmittelwerte berechnet. Die Versuchsergebnisse wurden anhand der Mixed Prozedur (PROC MIXED, SAS 8.2) analysiert. Der Effekt von Laktationsphase, Laktationstag und Behandlung, sowie die zweifache Wechselwirkung (Laktationsphase x Behandlung) wurden als feste Effekte in das Modell einbezogen. Um den Versuchsfehler in Verbindung mit der Laktationsphase zu betrachten, wurde der Laktationstag als Kovariable in der Kovarianzanalyse (ANCOVA) miteinbezogen. Da die ANCOVA auf der Parallelitätsannahme beruht, wurde diese durch den „lack-of-fit" Test geprüft. Wenn das „lack-of-fit" signifikant ($P < 0,05$) (Parallelitätsannahme verletzt) war, dann wurde der Laktationstag aus der Analyse ausgeschlossen.

Das Tier wurde als zufällige Variable in der Analyse betrachtet. Um die Kovarianz der wiederholten Messungen an demselben Tier und derselben Behandlung (Subjekt) in verschiedenen Laktationstagen (zeitliche Abhängigkeit) zu betrachten, wurde die Option „repeated" mit einer autoregressiven [type = ar (1)] Varianz-Kovarianz-Matrix-Struktur angewendet. Eigenschaft dieser Struktur ist, dass zeitlich aufeinander folgende Messungen bei demselben Subjekt enger korreliert sind [cov (e_{ijk}, $e_{ij'k}$) = $\sigma^2\rho^{|j-j'|}$, wobei $0 \leq \rho \leq 1$] (Littell et al., 1998).

Die Lsmeans wurden berechnet, wobei die Unterschiede zwischen den Behandlungsstufen mittels der Option „PDIFF" geprüft wurden. Die Freiheitsgrade wurden nach der Methode von Kenward-Rogers (ddfm = kr) geschätzt. Das Signifikanzniveau wurde für $P < 0,05$ erklärt.

Ergebnisse

Futteraufnahme

Die während der Versuchsperiode ermittelte Aufnahme an Trockenmasse aus TMR und zusammen mit dem separat verabreichten Kraftfutter ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Trockenmasseaufnahme (LSM; SEM; p>|t|)

kg TM/Tag	alle Kühe				1. Laktation				höhere Laktation			
	K	**Sc**	SEM	p=	**K**	**Sc**	SEM	p=	**K**	**Sc**	SEM	p=
TMR	**18,54**	**18,21**	0,23	0,310	**16,23**	**16,42**	0,35	0,702	**20,85**	**20,00**	0,30	**0,047**
Gesamt	**20,17**	**19,86**	0,23	0,338	**17,89**	**18,11**	0,35	0,653	**22,45**	**21,60**	0,30	**0,048**

K = Kontrollgruppe; Sc = Versuchsgruppe (mit Lebendhefe)

Bei den Jungkühen steigt in beiden Gruppen die TM-Aufnahme bis zum Versuchsende stetig an und es ist kein deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen zu erkennen, was auch aus den Mittelwerten der Tab. 3 ersichtlich ist. Bei den Altkühen hingegen steigt die Futteraufnahme schneller an und erreicht etwa am 100. Laktationstag ein Maximum. Gegen Versuchsende deutet sich in beiden Gruppen ein geringfügiger Rückgang an. Über die gesamte Versuchsperiode ist die TM-Aufnahme der Altkühe in der Kontrollgruppe signifikant höher (Tab. 3), in den einzelnen 10-Tagesperioden beträgt dieser Unterschied zwischen 0,17 und 1,55 kg TM pro Tier und Tag.

Milchleistung und Milchzusammensetzung

Tabelle 4 gibt die Ergebnisse der Milchleistung, der Milchzusammensetzung sowie der täglichen Fett- und Eiweißproduktion wieder.

Tabelle 4: Milchleistung und Milchzusammensetzung (LSM; SEM; p>|t|)

	alle Kühe				1. Laktation				höhere Laktation			
	K	**Sc**	SEM	p=	**K**	**Sc**	SEM	p=	**K**	**Sc**	SEM	p=
Milch-leistung, kg/d	**34,56**	**36,03**	1,28	0,414	**29,85**	**31,60**	1,93	0,523	**39,26**	**40,45**	1,65	0,609
Milchfett, %	**3,77**	**3,88**	0,09	0,412	**3,77**	**4,03**	0,14	0,179	**3,78**	**3,73**	0,12	0,751
Milchfett, kg/d	**1,281**	**1,371**	0,034	**0,059**	**1,089**	**1,230**	0,051	**0,050**	**1,474**	**1,512**	0,052	0,535
Milcheiweiß %	**3,30**	**3,24**	0,04	0,732	**3,30**	**3,27**	0,06	0,748	**3,30**	**3,21**	0,05	0,217
Milcheiweiß kg/d	**1,121**	**1,157**	0,035	0,464	**0,962**	**1,014**	0,052	0,478	**1,280**	**1,299**	0,045	0,766
Lactose, %	**4,86**	**4,83**	0,03	0,376	**4,90**	**4,89**	0,05	0,793	**4,81**	**4,78**	0,04	0,537
Harnstoff, mg/l	**218**	**218**	5	0,967	**212**	**225**	8	0,264	**224**	**212**	7	0,214
Zellzahl x 10^4	**25,5**	**20,5**	3,7	0,340	**13,8**	**17,5**	5,6	0,641	**37,2**	**23,5**	4,8	**0,046**
FECM, kg/d	**33,47**	**35,19**	0,98	0,212	**28,49**	**31,06**	1,47	0,220	**38,46**	**39,33**	1,26	0,625

K = Kontrollgruppe; Sc = Versuchsgruppe (mit Lebendhefe)

Bei der natürlichen Milchleistung zeigt sich sowohl bei den Jungkühen wie bei den Kühen mit mehreren Laktationen im Mittel ein Trend zu einer um etwa 1,5 kg höheren Leistung bei den supplementierten Kühen. Milchleistung und –Inhaltsstoffe spiegeln sich in den FECM-Leistungskurven wider: aufgrund der höheren Milchinhaltstoffgehalte der Jungkühe der Versuchsgruppe ist die FECM-Leistung stetig höher als bei den Jungkühen der Kontrollgruppe (LSMittelwert nicht signifikant) (Abbildung 1).

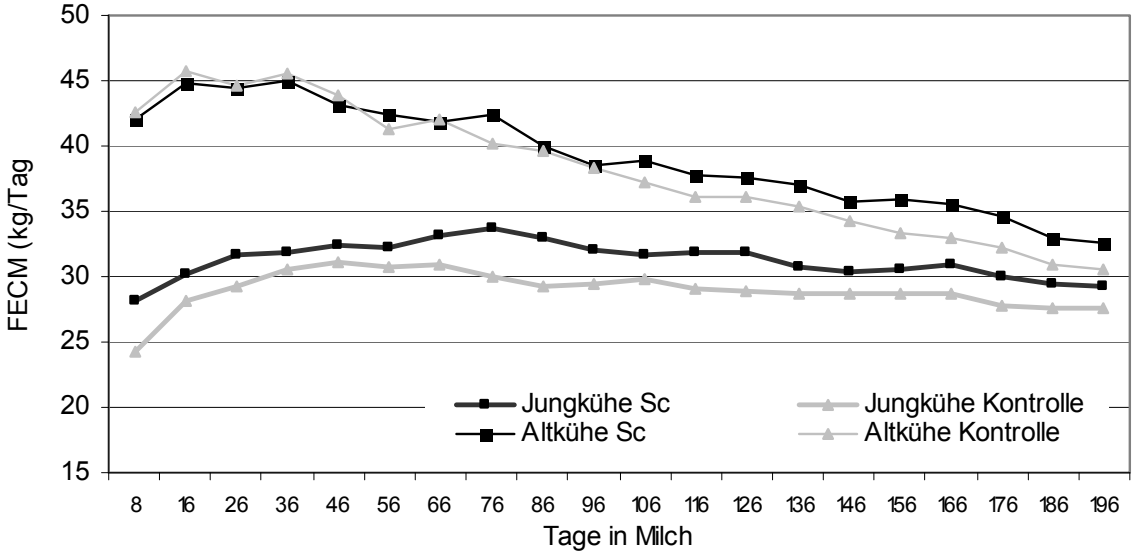


Abbildung 1: FECM-Leistung der Jung & Altkühe (Jungkühe=1 Laktation; Altkühe= ≥ 2 Laktation)

Da bei den älteren Kühen keine Unterschiede in den Milchinhaltsstoffen zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe vorhanden waren, wirkt sich die höhere Milchleistung der Altkühe der Versuchsgruppe in der zweiten Versuchshälfte tendenziell positiv auf die FECM-Leistung aus. Tendenziell ergibt sich eine Erhöhung um 1,7 kg/Tag bei den mit Lebendhefe gefütterten Kühen (siehe Tabelle 4, alle Kühe).

Fruchtbarkeit

Die relativ ungünstigere Versorgung der hefesupplementierten Tiere hat sich offensichtlich nicht negativ auf die Fruchtbarkeit ausgewirkt. Von den zur Besamung anstehenden 19 Kühen der Kontrollgruppe waren bis zum 200. Laktationstag 11 Kühe tragend geworden (58%). Bei den Kühen der Versuchsgruppe waren es entsprechend 16 von 20 Tieren (80%). Bei der mittleren Güstzeit und dem Besamungsindex gab es jedoch keine Unterschiede.

Diskussion und Schlussfolgerungen

Die Lebendhefezulage führte im Herdendurchschnitt zu einer tendenziell um 1,7 kg erhöhten FECM (nach Fett- und Eiweißgehalt korrigiert) Leistung gegenüber den Kontrolltieren und stimmt damit beispielsweise mit Versuchergebnissen von Maierhofer & Obermaier (2002) überein, die eine um 0,8 kg erhöhte FECM Leistung durch den Einsatz der gleichen Lebendhefe *Saccharomyces cerevisiae* CBS 493.94 feststellten. Die vorliegenden Ergebnisse können auf eine verbesserte Futterverwertung der Kühe zurückzuführen sein (siehe Abbildung 2). Die Futterverwertung (kg FECM Milch bezogen auf TM-Aufnahme) war bei der Sc Gruppe im Schnitt um 6,6 % erhöht. So ermittelten auch Maierhofer & Obermaier (2002) in ihren Untersuchungen eine deutlich verbesserte Verdaulichkeit der Rohnährstoffe bedingt durch den Lebendhefeeinsatz.

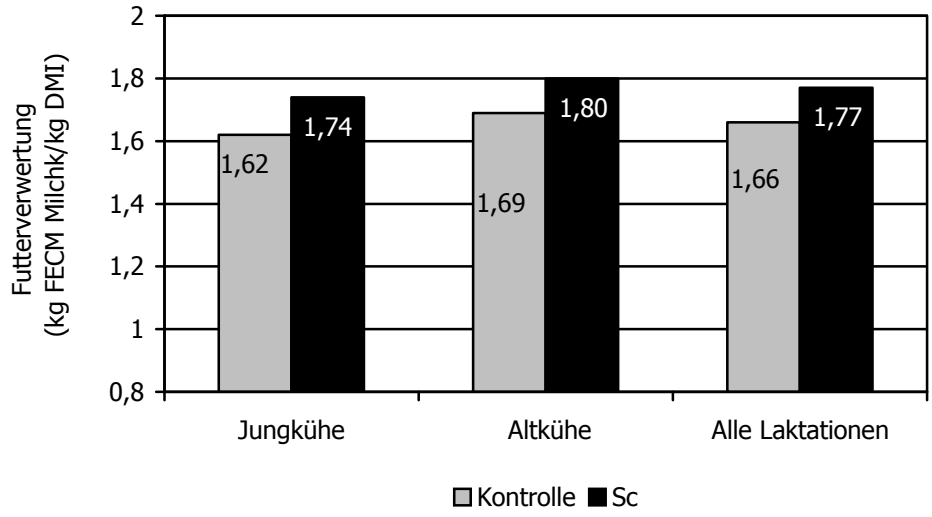


Abbildung 2: Futterverwertung der Jung & Altkühe (Jungkühe=1 Laktation; Altkühe= ≥ 2 Laktation)

Eine Steigerung der Futteraufnahme durch die Lebendhefe, wie sie in anderen Versuchen beschrieben (Erasmus et al., 1992; Formigoni et al., 2005) und in der Praxis häufig beobachtet wird, konnte allerdings bei dem vorliegenden Versuch nicht festgestellt werden. In einem Übersichtsartikel von Durand-Chaucheyras et al. (1997) über den Einsatz von Lebendhefen in der Milchviehfütterung untersuchten die Autoren die Auswirkung von Lebendhefe auf Futteraufnahme und Milchleistung in der Frühlaktation. Dabei stellen die Autoren in 7 von 8 Untersuchungen eine verbesserte Futteraufnahme durch den Hefekulturzusatz fest. Gleichzeitig zeigten sich in 4 der 8 Versuche positive Effekte auf die Milchleistung. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass ein positiver Einfluss einer Lebendhefezulage auf die Futteraufnahme als ziemlich sicher anzusehen ist, während eine Milchleistungssteigerung eher seltener beobachtet wird. Durch die höhere Futteraufnahme bei gleich bleibender Milchleistung wird die Kuh mit mehr Energie und Nährstoffen versorgt, was sich vor allem in der ersten Laktationshälfte bei hochleistenden Milchkühen positiv auf den Versorgungsstatus und damit auf den Stoffwechsel des Tieres auswirkt. Verbesserte Fruchtbarkeit, verminderte Klauenprobleme und geringeren Zellzahlgehalte in der Milch können beobachtet werden. Warum die Kühe in der vorliegenden Studie aber nicht mit einer verbesserten Futteraufnahme auf den Einsatz der Lebendhefe reagierten, ist nicht vollkommen geklärt. Möglicherweise ist es darauf zurückzuführen, dass die Gruppierung der Kühe in Bezug auf die Futteraufnahme nicht ausgewogen war. Bereits zu Beginn des Versuchs kurz nach der Gruppierung der Kühe lag die Trockensubstanzaufnahme in der Kontrollgruppe auf einem deutlich höheren Niveau. Somit nahm der Faktor Gruppierung einen nicht unerheblichen Einfluss auf die Futteraufnahme auch während der folgenden Laktation. Dies belegt auch eine hohe Korrelation zwischen der Futteraufnahme vor und nach dem Abkalben.

Dennoch zeigten die mit Lebendhefe gefütterten Kühe in der vorliegenden Arbeit eine verbesserte Fruchtbarkeit, obwohl die energetische Versorgung in der Hefegruppe durch die erhöhte Milchleistung relativ schlechter war. Dildey (1990) berichtet von einer tendenziell verkürzten Zwischenkalbezeit und einem verbesserten Besamungsindex.

Zahlreiche Studien, die an Universitäten, Versuchsanstalten und unter praktischen Feldbedingungen durchgeführt wurden, belegen einen positiven Einfluss von verfütterten Lebendhefen auf den Stoffwechsel und das Leistungsvermögen bei der Milchkuh. Diese Effekte sind nach Stand der Wissenschaft darauf zurückzuführen, dass effektive Lebendhefen auf natürliche Art und Weise die Pansenbakterien stimulieren und das Fermentationsmilieu im Pansen stabilisieren. Allerdings ist die Wirkungsweise der Hefezellen im Pansen noch nicht vollständig geklärt. Variierende Versuchsergebnisse deuten darauf hin, dass bestimmte ernährungs- und pansenphysiologische Bedingungen vorherrschen müssen, damit Hefeergänzungen die Pansenfunktionen beeinflussen können und Vorteile für das Tier bringen.

Es soll an dieser Stelle aber auch darauf hingewiesen werden, dass lebende Hefen natürliche Substanzen sind und als solche betrachtet werden müssen. Sie stellen eine gute Möglichkeit dar, den Stoffwechsel des Tieres zu unterstützen. Lebendhefen sind aber in keiner Weise dazu geeignet, gravierende Management- oder Gesundheitsprobleme einer Herde auszugleichen.

Literaturverzeichnis

Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin & P. Gouet (1995): Effects of live Saccharomyces cerevisiae cells on zoospore germination, growth and cellulolytic activity on rumen anaerobic fungus, Neocallimastix froontalis MCH3. Curr. Microbiol. 31(4): 201-205.

Dawson, K.A., and I.D. Girard (1997): Biochemical and physiological basis for the stimulatory effects of yeast preparations on ruminal bacteria. In: Proceedings of Alltech's 13th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry. Nottingham University Press, Loughborough, Leics. UK.

Dawson, K.A., K.E. Newman & J.A. Boling (1990): Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal bacterial activities. J. Anim. Sci. 68: 3392-3398

Dildey, D. (1990): Effect of Yea-Sacc on performance of cows at the Maddox Dairy in California. Field trial results, nicht veröffentlicht.

Durand-Chaucheyras, F., G. Fonty & G. Bertin (1997): The use of live yeasts as microbial feed additives for ruminants: Effects on rumen microflora and fermentation and on animal performance. Translation of an article published in the "Bulletin des GTV" (Dec. 1997, Nr.5, B, 576, pp 35-52).

Erasmus, L.J., P.M. Botha & A. Kistner (1992): Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation and duodenal nitrogen flow in dairy cows. J. Dairy Sci. 75: 3056-3065.

Formigoni A., P. Pezzi, M. Tassinari, G. Bertin, S. Andrieu (2005): Effect of yeast culture (Yea-Sacc®1026) supplementation on Italian dairy cow performance. Poster at Alltech's 21st Annual Symposium "Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry"

Girard, I.D. (1996): Characterization of stimulatory activities from Saccharomyces cerevisiae on the growth and activities of ruminal bacteria. Dissertation Thesis. University of Kentucky, Lexington, USA.

Ingledew, W.M. (1999): Alcohol production by Saccharomyces cerevisiae: a yeast primer. In: Jacques, Lyons & Kelsall (Hrgs.), The Alcohol Textbook, Third Edition, Nottingham University Press, United Kingdom, 75.

Jouany, J.P. (2001): Twenty Years of Research into Yeast Culture. Feed Compounder (August): 22-29.

Martin, S.A. & D.J. Nisbet (1992): Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. In: Symposium: Direct-fed microbials and rumen fermentation. J. Dairy Sci. 75: 1736-1744

Jouany, J.P., F. Mathieu, J. Senaud, J. Bohatier, G. Bertin & M. Mercier (1998): The effect of Saccharomyces cerevisiae and Aspergillus orysae on the digestion of the cell wall fraction of a mixed diet in defaunated sheep rumen. Rep. Nutr. Dev. 38: 401-416.

Koul, V., U. Kumar, V.K. Sareen & S. Singh (1998): Mode of action of yeast culture (Yea-Sacc1026) for stimulation of rumen fermentation in buffalo calves. J. Sci. Food Agric. 77: 407-413.

Kumar, U., V.K. Sareen & S. Singh (1997): Effect of yeast culture supplement on ruminal microbial populations and metabolism in buffalo calves fed a high roughage diet. J. Sci. Food. Agric. 73: 231-236.

Maierhofer, R. & A. Obermaier (2002). Einsatz von Hefen in der Fütterung von Milchkühen. Gruber Info 02/2002: 32-41.

Martin, S.A. & D.J. Nisbet (1992): Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. In: Symposium: Direct-fed microbials and rumen fermentation. J. Dairy Sci. 75: 1736-1744

Nisbet, D.J. & S.A. Martin (1991): Effect of Saccharomyces cerevisiae culture on lactate utilization by the ruminal bacterium Selenomonas ruminatium. J. Anim. Sci. 69: 4628-4633.

Rossi, F., P.S. Cocconcelli & F. Masoero (1995): Effect of a Saccharomyces cerevisiae culture on growth and lactate utilization by the ruminal bacterium Megasphera elsdenii. Ann. Zootech. 44: 403-409.

Smith, W.A., B. Harris, Jr., H.H. Van Horn and C.J. Wilcox (1993) Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow and yeast. J. Dairy Sci. 76:205.

Wallace, R.J. & C.J. Newbold (1993): Rumen fermentation and its manipulation: The development of yeast cultures as feed additives. In: T.P. Lyons (Ed.) Biotechnology in the feed industry. P. 173 Alltech Technical publications. Nicholasville, KY.

Wiedmeier, R.D., M.J. Arambel & J.L. Walters (1987): Effect of yeast culture and Aspergillus oryzae fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. J. Dairy Sci. 70: 2063-2068.

Autorenanschrift

Dr. Susanne Roth & Dr. Christian Scheidemann
Alltech (Deutschland) GmbH
Mühlenweg 143
22844 Norderstedt
Deutschland
sroth@alltech.com; cscheidemann@alltech.com

Effect of potassium diformate (Formi®) inclusion at two different dietary protein levels on performance and health of weaner piglets

Ulrich Eidelsburger[1], Christina Wald[2] and Naheeda Portocarero-Khan[2]

[1] BASF ChemTrade GmbH, Burgbernheim, Germany
[2] BASF Aktiengesellschaft, Ludwigshafen, Germany

Introduction

The inclusion of potassium diformate (Formi®) in the feed of weaner piglets has been shown in many experiments to have a substantial positive effect on animal performance (Roth et al. 1996; Kirchgessner et al. 1997; Partanen 2001; Diebold and Eidelsburger 2006). The benefit on production performance from supplementing pig diets with potassium diformate seems to originate to a certain extent from enhanced body protein retention (Roth et al. 1998). The protein contents of piglet diets differ a lot between countries. In the United Kingdom for example protein contents of piglet feed are substantially higher compared to diets used in continental farms. Based on that, the purpose of the present trial was to investigate the efficacy of potassium diformate at two different dietary protein levels on the performance and health of piglets.

Material and Methods

The influence of 1.2 % potassium diformate (Trade name Formi®) inclusion on performance and health of weaner piglets was compared against a negative control diet at two different dietary protein levels (2x2 format). Potassium diformate is a crystalline acidic salt of formic acid. In contrary to formic acid, potassium diformate is a solid product (composition: 35.4% formic acid, 34.6% formate and 30% potassium), which is odorless and non corrosive. Because of its unique chemical structure, potassium diformate combines the chemical properties of an acid and a salt.

Pigs were selected from a single-source high health status outdoor breeding unit. Pig genetics were: 25% Landrace, 25% Duroc, 50% PIC synthetic sire line (337). A total of 420 piglets with equal numbers of males and females were weaned at 28 days and randomly allocated to four treatments having an initial weight of 8 kg. Seven pens of 15 animals each were used per treatment. Pigs were housed in pens with solid concrete floors, each with a floor area of 1.2 m² per animal, whereof 70% was bedded lying area.

Feed was offered *ad libitum* throughout the trial as pellets by dual-space *ad lib* feed hoppers. Feed did not contain any zinc or prophylactics. Free access to water was available all the times. During the first two weeks, a starter feed was offered containing 23% (high) or 20% (low) crude protein with or without 1.2% Formi (diet 1: 3 kg per animal). During the weaner phase (weeks 3 to 7) the crude protein content was 23% or 20% during week 3 (diet 2: 3 kg feed per animal). During week 4 and 5 a weaner feed was offered with 20% or 19% crude protein (diet 3: 10 kg per animal). In the last two

weeks of the trial the crude protein content was 18.5% in all treatment groups, but still with or without 1.2% Formi (diet 4: approx. 15 kg per animal).

The starter feed (diet 1, high protein, w/o Formi) was mainly based on micronised wheat (27.5%) and maize (7.5%), porridge oats (15.6%), potato starch (37.5%), skim milk powder (10%), sweet whey (12.5%), hering meal (7.9%) and full fat soybeans (10%). The composition of diet 2 (low protein with 1.2% Formi) was micronised wheat (34%), porridge oats (7.5%), raw wheat (10%), wheatfeed (5%), skim milk powder (2.5%), sweet whey (7.5%), hering meal (2.9%) and full fat soybeans (17.5%). Diet 3 (high protein) was based on 56% wheat, 15% barley, 14% soybean meal H49; diet 3 (low protein) contained 56% wheat, 18% barley, 12% soybean meal H49. Diet 4 was identical in crude protein content with and without 1.2 Formi and contained 46% wheat, 15% barley and 18% soybean meal H49.

The experimental design was based on the comparison of four feed treatments throughout the trial. There were 7 replicates (pens) and 105 animals per treatment. Statistical analysis was therefore carried out in a 2x2 format. Data was analyzed using Analysis of Variance (GenStat 8th Edition) using the following sources of variation: Protein Level, Formi and Interaction Protein Level * Formi.

Feed intake, weight gain and feed conversion rate were determined for every single diet period and summarized for the starter and weaner phase as well as for the overall period. Individual weights were recorded at the beginning and the end of the experiment. The pigs were observed twice daily and the health of the pigs checked. Pigs that were found to be ill were treated as necessary and the type of treatment given, reason and duration of treatment recorded. Where pigs died or were removed for welfare reasons, pig weight, reason for removal, date of death and number of days on trial were calculated and recorded. Regarding dung scoring, a visual examination of the dung was carried out at each weighing event, recording the consistency of faeces (scale from 1=soft to 5=hard).

Results

The results of the starter phase are summarized in Table 1. Piglets had an average start weight of 8.00 kg. The average growth rate was 195 g/d with a daily feed intake of 231 g/d. The addition of 1.2 % Formi resulted in a significantly improved daily weight gain (+20%) and feed conversion rate (-12.4%). The feed intake was 7.2% higher in the Formi treatment groups. Piglets supplemented with Formi had a significant higher weight at the end of the starter phase (10.88 kg vs. 10.18 kg, + 6.9%). No significant differences were seen between the groups of piglets fed diets with different protein levels, or when protein with the interaction of Formi was used as an analyzing factor.

Table 1: Effect of diet on weight gain, feed intake and feed conversion rate (FCR) in weaner piglets (starter phase, week 1+2, 8-10 kg LW)

Protein Level	Formi	Weight gain (g/pig/day)	Feed intake (g/pig/day)	FCR (kg/kg)
High	Plain	167.7	219.2	1.35
High	1.2% Formi	198.1	224.9	1.15
Low	Plain	186.4	226.0	1.23
Low	1.2% Formi	226.8	252.2	1.12
Formi	Significance	0.022*	0.190^{NS}	0.013*
	SEM	10.25	8.39	0.04
Protein Level	Significance	0.115^{NS}	0.163^{NS}	0.207^{NS}
	SEM	10.25	8.39	0.04
Interaction	Significance	0.732^{NS}	0.395^{NS}	0.418^{NS}
Formi * Protein	SEM	14.50	11.87	0.06
	COV	19.7	13.6	12.5

	Formi	Weight gain (g/pig/day)	Feed intake (g/pig/day)	FCR (kg/kg)
	Plain	177.1 [b]	222.6	1.29 [a]
	1.2% Formi	212.5 [a]	238.6	1.13 [b]
	Relative (%)	+ 20.0 %	+ 7.2 %	- 12.4 %

The results of the weaner phase (weeks 3 to 7) are presented in Table 2. The average weight gain was 534 g/d with a daily feed intake of 834 g/d. The addition of 1.2 % Formi resulted in a significantly improved daily live weight gain (+13.8%) and feed conversion rate (-8.5%). The feed intake increased by 3.7% in the treatment groups, supplemented with 1.2% Formi. No significant differences were seen between the groups of piglets fed diets with different protein levels, or for the protein and Formi interaction.

Table 2: Effect of diet on weight gain, feed intake and feed conversion rate (FCR) in weaner piglets (weaner phase, week 3-7, 10-30 kg LW)

Protein Level	Formi	Weight gain (g/pig/day)	Feed intake (g/pig/day)	FCR (kg/kg)
High	Plain	497.7	840	1.69
High	1.2% Formi	576.6	847	1.47
Low	Plain	500.1	798	1.59
Low	1.2% Formi	559.7	850	1.53
Formi	Significance	<0.001***	0.281^{NS}	0.002**
	SEM	10.49	18.8	0.03
Protein Level	Significance	0.627^{NS}	0.461^{NS}	0.617^{NS}
	SEM	10.49	18.8	0.03
Interaction	Significance	0.732^{NS}	0.414^{NS}	0.081^{NS}
Formi * Protein	SEM	14.84	26.6	0.04
	COV	7.4	8.4	6.8

	Formi	Weight gain (g/pig/day)	Feed intake (g/pig/day)	FCR (kg/kg)
	Plain	499 ^{b}	819	1.64 ^{a}
	1.2% Formi	568 ^{a}	849	1.50 ^{b}
	Relative (%)	+ 13.8 %	+ 3.7 %	- 8.5 %

Table 3: Effect of diet on weight gain, feed intake and feed conversion rate (FCR) in weaner piglets (overall period, weeks 1-7, 8-30 kg LW)

Protein Level	Formi	Weight gain (g/pig/day)	Feed intake (g/pig/day)	FCR (kg/kg)
High	Plain	408.5	672	1.65
High	1.2% Formi	474.1	679	1.43
Low	Plain	415.2	643	1.55
Low	1.2% Formi	469.6	688	1.47
Formi	Significance	<0.001***	0.260^{NS}	<0.001***
	SEM	9.44	15.80	0.03
Protein Level	Significance	0.936^{NS}	0.661^{NS}	0.381^{NS}
	SEM	9.44	15.80	0.03
Interaction	Significance	0.679^{NS}	0.405^{NS}	0.061^{NS}
Formi * Protein	SEM	13.35	22.30	0.04
	COV	8.0	8.8	6.0

	Formi	Weight gain (g/pig/day)	Feed intake (g/pig/day)	FCR (kg/kg)
	Plain	411.8 ^{b}	658	1.60 ^{a}
	1.2% Formi	471.8 ^{a}	683	1.45 ^{b}
	Relative (%)	+ 14.6 %	+ 3.8 %	- 9.4 %

For the overall period of 7 weeks the average daily weight gain was 442 g based on a feed intake of 670 g/d, resulting in an average feed conversion rate of 1.52 kg/kg (see Table 3). The addition of 1.2% Formi resulted in a highly significant improvement of daily weight gain (+14.6%) and feed conversion rate (- 9.4%). The daily feed intake was increased by 3.8% in the groups supplemented with Formi. Piglets supplemented with Formi had a significant higher live weight at the end of the overall trial (30.76 kg vs. 27.65 kg, + 11.2%). Again, the different protein levels in the feed did not show any significant influence on performance parameters in the overall period.

The level of medication used during the trial was extremely low with just 8 medications, mainly caused by scour. The average score of the faeces consistency was 4.14. During the whole trial the faeces consistency never was significantly affected by the addition of Formi or the different protein levels in the feed.

Discussion

The use of potassium diformate as non antibiotic growth promoter has been demonstrated widely to enhance the production performance of growing pigs (Roth et al. 1996; Kirchgessner et al. 1997; Partanen 2001; Eidelsburger et al. 2005; Diebold and Eidelsburger 2006). The mode of action of potassium diformate and other organic acid products based on formic acid has been intensively investigated and documented in the scientific literature (Partanen and Mroz 1999; Eidelsburger 2001; Diebold and Eidelsburger 2006). In the present investigation the performance of piglets after weaning is significantly improved either in the starter phase directly after weaning as well as in the weaner phase up to 30 kg live weight. In both trial phases and through the overall trial the daily live weight gain (+14.6%) and the feed conversion rate (-9.4%) of the piglets were significantly improved by the addition of 1.2% potassium diformate (Formi) to the diets. This remarkable efficacy of potassium diformate was present either at the high feed protein contents, representing piglet feeding conditions in the United Kingdom, as well as at the lower feed protein contents representing continental European piglet feeding conditions. This result is not surprising, because Partanen (2001) conducted a meta-analysis on the relevant and available literature for organic acid improving animal performance in piglet and fattening pigs feeding. The result clearly indicated, that formic acid and potassium diformate have the highest and most sustainable positive effect on improving performance in pig feeding (Partanen 2001).

In the treatment groups without Formi supplementation, the feed conversion rate of the piglets fed the high protein diet was numerically higher by approximately 0.1 kg/kg compared to the low protein diet. This was true in the starter phase (week 1+2) and during the weaner phase and subsequently through the overall trial, too. In the animals receiving feed supplemented with 1.2 % Formi, this effect was not present, because the feed conversion rate in the low protein diets was even slightly better during weaner phase and the overall trial compared to the high protein diet. Therefore Formi supplementation seem to have even a larger effect on improving feed conversion rate in high protein diets fed to piglets after weaning compared to low protein diets used in the present experiment. Therefore Formi supplementation seems to optimize feed conversion rate in weaner piglets independently from the protein content of the diet. The reason for those higher effects of Formi on feed conversion in high protein diets are most likely based on the mode of action of organic acids, especially formic acid based products or special formulations such as potassium diformate. It is well-known and accepted in the scientific literature, that such products have positive effects on reduced buffer capacity in the feed, accelerated and improved decrease of pH value in stomach contents with the subsequent better development of digestive enzymes (Roth et al. 1996; Kirchgessner et al. 1997; Partanen and Mroz 1999; Eidelsburger 2001; Partanen 2001). In combination with the well documented positive effects of formic acid and potassium diformate on digestibility of nutrients (e.g.

protein), reducing E. coli, salmonella and other pathogenic bacteria and therefore optimizing the digestion process in the small intestine and hindgut of piglets (Diebold and Eidelsburger 2006), there might be an explanation for such more pronounced effects of potassium diformate in high protein diets compared to low protein diets as seen in the present investigation. To what extent such effects from potassium diformate are related to an increased protein digestibility, a higher N retention (Roth et al. 1998) or a reduced degradation of amino acids before absorption must be investigated in further experiments.

Conclusions

In the present experiment the addition of 1.2% potassium diformate (Formi®) increased significantly the animal performance in piglets after weaning. The daily weight gain and the feed conversion rate were significantly improved throughout the trial regardless from the protein level in the feed. The feed intake was always positively influenced by the additions of potassium diformate in the feed. The level of protein in the feed had no significant influence on the animal performance data. Furthermore there was no significant interaction between protein level and addition of potassium diformate detectable. The positive effect of potassium diformate on feed conversion rate in the high protein diet was even higher more pronounced compared to the diets not containing potassium diformate. Independent from the feed protein content used in different countries the addition of potassium diformate guarantees a significant improvement of animal performance in piglet feeding.

Literature

Diebold, G., Eidelsburger, U. (2006): Acidification of diets as an alternative to antibiotic growth promoters. In: Antimicrobial Growth Promoters: Where do we go from here? (eds. A.K. Kies, D. Barug, M.W.A. Verstegen, J. De Jong), Wageningen Academic Publishers, 311-327.

Eidelsburger, U. (2001): Feeding short chain organic acids to pigs. In: Recent Developments in Pig Nutrition 3 (eds. P.C. Garnsworthy, J. Wiseman), Nottingham University Press, pp. 107-121.

Eidelsburger, U., Wald, Christina, Looft, C. (2005): Zum Einfluss von Kaliumdiformiat auf die Mast- und Schlachtleistung von Schweinen. In: 4. BOKU-Symposium Tierernährung; „Tierernährung ohne antibiotische Leistungsförderer". Wien, 27. Oktober 2005, 176-180.

Kirchgessner, M., Paulicks, Brigitte R., Roth, F.X. (1997): Effects of supplementations of diformate complexes (Formi™ LHS) on growth and carcass performance of piglets and fattening pigs in response to application time. Agribiol. Res. 50: 1-10.

Partanen, K.H., Mroz, Z. (1999): Organic acids for performance enhancement in pig diets. Nutr. Res. Rev. 12: 117-145.

Partanen, K.H. (2001): Organic acids – their efficacy and modes of action in pigs. In: A. Piva, K.E. Bach Knudsen and J.E. Lindberg (eds.): Gut environment of pigs. P 201-218. The Nottingham University Press, Nottingham.

Roth, F.X., Kirchgessner, M., Paulicks, Brigitte R. (1996): Nutritive use of feed additives based on diformates in the rearing and fattening of pigs and their effects on performance. Agribiol. Res. 49: 307-317.

Roth, F.X., Windisch, W., Kirchgessner, M. (1998): Effect of potassium diformate (Formi™ LHS) on nitrogen metabolism and nutrient digestibility in piglets at graded dietary lysine supply. Agribiol. Res. 51, 167-175.

Address of first author

Dr. Dr. habil. Ulrich Eidelsburger
BASF ChemTrade GmbH
Head of Sales Europe Animal Nutrition
Industriestrasse 20
91593 Burgbernheim, Germany
Email: ulrich.eidelsburger@basf.com

Formi®
BASF-ChemTrade.com
Your partner for Animal Nutrition
The first non-antibiotic performance enhancer for pigs approved by the European Union
Formi® is our feed antibiotic alternative product for pigs
BASF ChemTrade GmbH
Industriestrasse 20
D-91593 Burgbernheim
Telefon +49 (0) 98 43/98 28-0
Telefax +49 (0) 98 43/98 28-900
E-Mail info-chemtrade@basf.com
Web www.basf-chemtrade.com
BASF
The Chemical Company

Wirkung von Benzoesäure in faserreichem Futter auf die Nährstoffverdaulichkeit und die Produktion flüchtiger Fettsäuren bei wachsenden Schweinen

K. Bühler[1], B. Bucher[1], C. Wenk[1]

Institut für Nutztierwissenschaften, ETH Zürich

Einleitung

Faserreiches Futter wird häufig bei tragenden Sauen eingesetzt, um Probleme vor und während des Abferkelns zu vermeiden (Ramonet et al., 2000). Da Futter mit einem hohen Faseranteil häufig kostengünstiger sind als herkömmliche Futter und die Gesundheit der Tiere fördern(Le Goff et al., 2002), werden sie auch in der Mast vermehrt eingesetzt. Allerdings können Fasern nur durch Mikroorganismen und nur teilweise verdaut werden (mikrobielle Vergärung). Dieser Prozess findet beim Schwein hauptsächlich im Dickdarm statt, wo die Nährstoffe nicht mehr absorbiert werden können (Wenk, 2001). Dadurch sinkt deren Verdaulichkeit und die Nährstoffe, besonders Proteine werden vermehrt mit dem Kot ausgeschieden (Noblet & Le Goff, 2001). Für eine effiziente Mast ist der dadurch entstehende Verdünnungseffekt kontraproduktiv. Auf der anderen Seite werden bei der mikrobiellen Vergärung flüchtige Fettsäuren (FFS) produziert, die von Caecum und Dickdarm fast vollständig absorbiert werden können (Jorgensen et al., 1997) und so dem Schwein als Energiequelle zur Verfügung stehen (Kass et al., 1980). Die Abhängigkeit der Faserverdauung von der Darmflora erlaubt, durch Veränderungen derselben die negativen Effekte einer faserreichen Fütterung zu reduzieren. Es ist bekannt, dass organische Säuren wie Benzoesäure die Darmflora beeinflussen und dadurch Leistung und Gesundheit der Tiere verbessern (Dierick et al., 2004; Mroz, 2005). Uns ist keine Studie bekannt, welche die Interaktion von Fasergehalt und organischer Säure untersucht. Durch die Pufferwirkung solcher Futter können einerseits die organischen Säuren neutralisiert werden. Andererseits wird die Passagerate verlängert und so die antibakterielle Wirkung der Säuren verstärkt. Dies wiederum kann die Darmflora so verändern, dass Futter mit hohem Fasergehalt von den Schweinen besser verwertet werden können.

Ziel dieser Studie war, die beiden Hypothesen anhand von Benzoesäure zu testen und abzuklären, wie der Zusatz von Benzoesäure die Verwertung faserreichen Futters durch wachsende Schweine beeinflusst. Zusätzlich wurde untersucht, welchen Einfluss der Fasergehalt und der Zusatz von Benzoesäure auf die Produktion von FFS haben.

Material und Methoden

Der Versuch fand mit 32 weiblichen Edelschweinen auf der Versuchsstation 'Chamau' der ETH Zürich statt. Bei einem Gewicht von etwa 13 kg wurden die Tiere in Einzelbuchten eingestallt. Die Tiere erhielten während der ganzen Versuchsdauer eine von 4 Futtervarianten (pelletiert): normaler Fasergehalt ohne Benzoesäure (LF-), normaler Fasergehalt mit 0.5 % Benzoesäure (LF+), hoher Fasergehalt ohne Benzoesäure (HF-), hoher Fasergehalt mit 0.5 % Benzoesäure (HF+). Die Fütterung

erfolgte nach einem restriktiven gewichts- und variantenabhängigen Rationenplan. Tiere der Varianten LF- und LF+ erhielten 180 g Futter * $LG^{0.569}$, Tiere der Varianten HF- und HF+ 200 g Futter * $LG^{0.569}$, um den Verdünnungseffekt durch die Faserzulage auszugleichen. Die tägliche Futtermenge wurde auf zwei Fütterungen verteilt, Wasser stand *ad libitum* zur Verfügung. Bei einem durchschnittlichen LG von 56 kg erfolgte die Umstellung vom Jager- auf das Ausmastfutter. Vor der Futterumstellung wurde die Hälfte der Tiere geschlachtet. Die restlichen Schweine wurden bis zu einem LG von 108 kg ausgemästet.

Das Grundfutter bestand aus einer getreidebasierten, praxisüblichen Mischung (Varianten LF- und LF+). Der Zusatz von je 5 % Sojaschalen und Weizenstroh zum Grundfutter ergab die Varianten HF- und HF+. Benzoesäure wurde in der Form von VevoVitall® (DSM Nutritional Products Ltd., Basel, CH) den jeweiligen Kontrollfuttern zugesetzt. Der berechnete Proteingehalt in der Jagerperiode war 177 g/kg bei einem Lys/VES-Verhältnis von 0.84 g/MJ. Die entsprechenden Werte in der Ausmastperiode waren 145 g/kg bzw. 0.63 g/MJ. Der berechnete VES-Gehalt lag in allen Varianten bei 13 MJ/kg. Als Indikator zur Bestimmung der Verdaulichkeit wurde Celite 545 (säureunlösliche Asche) eingesetzt.

Die Tiere wurden wöchentlich gewogen und täglich wurde der Futterverzehr bestimmt. Damit die Verdaulichkeit der Nährstoffe bestimmt werden konnte, fanden in vier Sammelperioden zu je vier aufeinander folgenden Tagen Kotsammlungen statt. Pro Sammelperiode wurde zudem von jeder Futtervariante eine Probe genommen. Vor Beginn der Ausmast wurden vier Tiere pro Variante 3-4 h nach der letzten Fütterung geschlachtet und der Magendarmtrakt entfernt. Anhand der daraus gewonnenen Proben konnten die FFS Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure bestimmt werden. Der Darmtrakt wurde in 10 Abschnitte unterteilt, wobei für die Analyse der FFS nur der Inhalt der Abschnitte Caecum (C), Colon 1-4 (Co 1-4) und terminales Colon (Co 5) berücksichtigt wurden. Der Kot wurde pro Sammelperiode und Tier zusammengefasst, gefriergetrocknet und gemahlen (0.5 mm), die Futterproben wurden gemahlen (0.75 mm). Der Darminhalt wurde unmittelbar nach der Entnahme in flüssigem Stickstoff gefroren und bis zur Analyse bei -20 °C aufbewahrt. Die Analysen von Kot und Futter umfassten folgende Parameter: Rohprotein (N * 6.25), Trockensubstanz und Aschegehalt (TS/RA) nach Standardmethoden (Naumann et al., 1976), Bruttoenergie (BE) kalorimetrisch, NDF und ADF nach der Methode von Robertson et al. (1981). Im Futter wurde zusätzlich der Rohfettgehalt untersucht. Die Bestimmung der FFS erfolgte mittels HPLC (HPX-87H Säule, Temperatur: 60°, UV-Detektierung bei 210 nm).

Für die statistische Analyse wurden die Daten der FFS in zwei Gruppen zusammengefasst: C und CO1-5. Die Auswertung erfolgte mit einer Varianzanalyse (Mixed model procedure of SAS, SAS Institute Inc., Cary (NC), USA). Bei einem $p < 0.05$ nach Bonferroni-Adjustment wurden Unterschiede zwischen den Mittelwerten als statistisch signifikant bestimmt. Der Einfluss der einzelnen Faktoren Fasergehalt (F), Benzoesäure (B) und deren Interaktion (F x B) konnten aus der Varianzanalyse bestimmt werden.

Ergebnisse und Diskussion

Der Zusatz von Benzoesäure verbesserte den Tageszuwachs in der Jagerperiode ($p < 0.01$). Die Steigerung betrug bei der Variante LF+ 72 g/d und bei der Variante HF+ 85 g/d im Vergleich zu den Futtervarianten ohne Benzoesäure (Tabelle 1). Die Futtervarianten zeigten jedoch keine statistischen Unterschiede. Die Zugabe von Sojaschalen und Strohmehl steigerte in der Ausmastperiode den Tageszuwachs signifikant ($p < 0.01$), während Benzoesäure keinen Einfluss zeigte (Tabelle 1). Durch die Faserzulage wurde die Futterverwertung verschlechtert ($p < 0.01$). Dabei war die Futterverwertung bei Variante HF- mit einem Wert von 2.19 deutlich schlechter als bei den Varianten LF- und LF+ (Tabelle 1).

Tabelle 1: Tageszuwachs und Futterverwertung

	Futtervariante					p-Werte		
	LF-	LF+	HF-	HF+	SEM	F	B	F x B
Jagerperiode (n = 32)								
Zuwachs (g/d)	**557**	**629**	**578**	**663**	**50**	0.33	< 0.01	0.82
Futterverwertung (kg/kg)	**1.89^{a}**	**1.92^{a}**	**2.19^{b}**	**2.06^{ab}**	**0.05**	< 0.01	0.25	0.08
Ausmast (n = 16)								
Zuwachs (g/d)	**747^{a}**	**771^{ab}**	**810^{ab}**	**869^{b}**	**38**	< 0.01	0.13	0.52
Futterverwertung (kg/kg)	**2.77**	**2.76**	**2.88**	**2.75**	**0.11**	0.97	0.95	0.95

[1)] p-Werte zeigen den Einfluss des Fasergehaltes (F), der Benzoesäure (B) und deren Interaktion (F x B). [a, b] Mittelwerte innerhalb der gleichen Zeile, die nicht den gleichen Hochbuchstaben besitzen, sind signifikant ($p < 0.05$) voneinander verschieden.

In der Jagerperiode hatten sowohl die Faserzulage als auch der Zusatz von Benzoesäure einen starken Einfluss auf die scheinbare Verdaulichkeit von N [v(N)] und Energie [v(E)] ($p < 0.01$). Während Benzoesäure v(N) und v(E) förderte, wurden diese Parameter durch den erhöhten Fasergehalt gleichzeitig gehemmt (Tabelle 2). Variante LF+ wies dabei mit dem v(N) von 0.82 und dem v(E) von 0.84 die höchsten Werte auf. Diese waren signifikant höher als die tiefsten Werte, die bei Variante HF- gemessen wurden (Tabelle 2). In der Ausmastperiode war der hemmende Effekt der Faserzulage auf die Verdaulichkeit zu beobachten ($p < 0.05$).

Tabelle 2: Scheinbare Verdaulichkeit von N [v(N)] und Energie [v(E)]

	Futtervariante					p-Werte		
	LF-	LF+	HF-	HF+	SEM	F	B	F x B
Jagerperiode (n = 32)								
v(N)	**0.79^{ac}**	**0.82^{a}**	**0.75^{b}**	**0.77^{bc}**	**0.01**	< 0.01	< 0.01	0.69
v(E)	**0.83^{a}**	**0.84^{a}**	**0.78^{b}**	**0.79^{b}**	**0.01**	< 0.01	< 0.01	0.44
Ausmast (n = 16)								
v(N)	**0.83**	**0.85**	**0.79**	**0.81**	**0.02**	0.02	0.35	0.88
v(E)	**0.84**	**0.86**	**0.82**	**0.82**	**0.01**	< 0.01	0.28	0.44

[1)] p-Werte zeigen den Einfluss des Fasergehaltes (F), der Benzoesäure (B) und deren Interaktion (F x B). a, b, c Mittelwerte innerhalb der gleichen Zeile, die nicht den gleichen Hochbuchstaben besitzen, sind signifikant ($p < 0.05$) voneinander verschieden.

Die Anreicherung des Futters mit Fasern hatte weder auf den absoluten Gehalt der untersuchten FFS (Resultate nicht gezeigt) noch auf deren prozentuale Anteile in Caecum und Colon einen Einfluss ($p > 0.05$). Auf den Zusatz von Benzoesäure reagierte einzig Buttersäure mit einem statistisch signifikanten Anstieg ($p < 0.05$). Der Anteil in Caecum und Colon stieg dabei auf Kosten der Essigsäure auf über 2 % (Tabelle 3). Der Anteil an Propionsäure wurde durch Benzoesäure nicht signifikant verändert, doch ist auch hier ein numerischer Anstieg zu beobachten. Einzig der Anteil an Essigsäure war in den Varianten mit Benzoesäure verringert, allerdings konnte auch hier kein Zusammenhang mit dem Zusatz von Benzoesäure ($p > 0.05$) beobachtet werden (Tabelle 3).

Tabelle 3: absoluter Gehalt aller FFS und deren prozentualer Anteil in Caecum und Colon

	Futtervariante					**p-Werte**		
	LF-	LF+	HF-	HF+	SEM	F	B	F x B
FFS total (mmol/l)								
Caecum	**53.86**	**46.11**	**53.46**	**50.71**	**4.95**	0.63	0.24	0.57
Colon	**37.57**	**37.56**	**37.68**	**38.63**	**3.41**	0.82	0.86	0.86
Essigsäure (% total)								
Caecum	**78.93**	**76.69**	**80.03**	**76.42**	**1.87**	0.77	0.06	0.63
Colon	**80.26**	**78.35**	**80.02**	**78.60**	**1.81**	0.998	0.19	0.84
Propionsäure (% total)								
Caecum	**19.37**	**20.82**	**18.4**	**21.43**	**1.78**	0.89	0.11	0.55
Colon	**18.09**	**19.08**	**18.37**	**19.37**	**1.60**	0.80	0.39	0.995
Buttersäure (% total)								
Caecum	**1.70**	**2.49**	**1.57**	**2.15**	**0.31**	0.38	0.02	0.70
Colon	**1.67**	**2.57**	**1.62**	**2.03**	**0.35**	0.30	0.03	0.36

[1)] p-Werte zeigen den Einfluss des Fasergehaltes (F), der Benzoesäure (B) und deren Interaktion (F x B).

Die Resultate der Mastleistung zeigen deutlich, dass die Wirkung der beiden Faktoren Benzoesäure und Fasergehalt vom Alter der Tiere abhängt. Organische Säuren wirken vor allem bei jüngeren Tieren, da diese sehr sensibel auf Änderungen der Darmflora reagieren (Partanen & Mroz, 1999), während die etablierte Flora älterer Tiere stabil ist. Auf der anderen Seite konnte gezeigt werden, dass mit zunehmendem Alter eine Adaptation an faserreiches Futter stattfindet (Noblet & Shi, 1993). Die deutliche Verschlechterung der Futterverwertung bei den Varianten HF dürfte im unterschiedlichen Fütterungsregime begründet sein.

Es ist bekannt, dass in faserreichem Futter die Verdaulichkeit von N und Energie reduziert ist (Le Goff et al., 2002). Es scheint jedoch, dass zumindest in der Jagerperiode der Zusatz von Benzoesäure diesen negativen Effekt teilweise kompensieren kann. Dies könnte an der veränderten Darmflora liegen. Einen weiteren Hinweis auf den Einfluss von Benzoesäure auf die Darmflora gibt auch die Zusammensetzung der FFS in Caecum und Colon. Der Anstieg der Buttersäure ist dabei positiv zu werten, da sich Buttersäure nach Argenzio et al. (1974) besonders gut als Energiequelle eignet. Es ist zu beachten, dass der Gehalt an FFS an nur vier Tieren pro Variante untersucht wurde und die Aussagekraft dieser Resultate somit beschränkt ist.

Die bisherigen Resultate lassen noch keinen eindeutigen Schluss über die Wirkungsweise von Benzoesäure in faserreichem Futter zu. Die Hypothese, dass die Faserzulage die organischen Säuren neutralisiert, scheint jedoch zumindest für Benzoesäure nicht zuzutreffen. Diese Studie deutet darauf hin, dass der Zusatz von Benzoesäure die Verwertung von Futter mit hohem Fasergehalt verbessert.

Ausblick

Die Analysen (speziell von NDF und ADF) und die Auswertung des beschriebenen Versuches sind noch nicht vollständig abgeschlossen. Zusätzlich wurde ein Anschlussversuch mit 32 weiblichen Mastschweinen und den Futtervarianten LF- und HF- durchgeführt. Dieser untersuchte den Einfluss der Einstreu auf die Nährstoffverdaulichkeit. Auch bei diesem Versuch sind die Analysen noch im Gange. Nach Abschluss der Analysen beider Versuche, sollten weitere Aussagen über die Wirkung von Benzoesäure in faserreichem Futter möglich sein.

Literatur

Argenzio RA, Southworth M. 1974. Sites of organic acid production and absorption in gastrointestinal tract of the pig. Am J Physiol 228:454-460.

Dierick N, Michiels J, van Nevel Ch. 2004. Effect of Medium Chain Fatty Acids and Benzoic Acid, as Altenatives for Antibiotics, on Growth and some Gut Parameters in Piglets. Communications in agricultural and applied biological sciences 69:187-190.

Jorgensen H, Larsen T, Zhao XQ, Eggum BO. 1997. The energy value of short-chain fatty acids infused into the caecum of pigs. Br J Nutr 77:745-756.

Kass ML, Vansoest PJ, Pond WG. 1980. Utilization of Dietary Fiber from Alfalfa by Growing Swine .2. Volatile Fatty-Acid Concentrations in and Disappearance from the Gastrointestinal-Tract. J Anim Sci 50:192-197.

Le Goff G, van Milgen J, Noblet J. 2002. Influence of dietary fibre on digestive utilization and rate of passage in growing pigs, finishing pigs and adult sows. Br Soc Anim Sci 74:503-515.

Mroz Z. 2005. Organic acids as potential alternatives fo antibiotic growth promotors for pigs. Advances in Pork Production 16:169-182.

Naumann, C and Bassler, R. (1997): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. In: Methodenbuch, Band III, 3. Ausgabe, 4. Ergänzungslieferung, VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany.

Noblet J, Le Goff G. 2001. Effect of dietary fibre on the energy value of feeds for pigs. Anim Feed Sci Technol 90:35-52.

Noblet J, Shi XS. 1993. Comparative Digestibility of Energy and Nutrients in Growing Pigs Fed Ad-Libitum and Adults Sows Fed at Maintenance. Livest Prod Sci 34:137-152.

Partanen KH, Mroz Z. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. Nutr Res Rev 12:117-145.

Ramonet Y, Robert S, Aumaitre A, Dourmad JY, Meunier-Salaun MC. 2000. Influence of the nature of dietary fibre on digestive utilization, some metabolite and hormone profiles and the behaviour of pregnant sows. Anim Sci 70:275-286.

Robertson JB, Van Soest PJ. 1981. The detergent system of analysis and its application to human food. 123-158.

Wenk C. 2001. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. Anim Feed Sci Technol 90:21-33.

Autorenanschrift

ETH Zürich
Kathrin Bühler
Institut für Nutztierwissenschaften/Ernährungsbiologie
LFH B 4
Universitätstrasse 2
CH-8092 Zürich, Schweiz
e-mail: kathrin.buehler@inw.agrl.ethz.ch

Wir danken der DSM Nutritional Products Ltd, CH – 4002 Basel für die finanzielle Unterstützung dieser Studie.

DSM Products

UNLIMITED QUALITY

AT DSM NUTRITIONAL PRODUCTS WE ARE DEDICATED TO BRINGING ADDITIONAL VALUE TO THE FEED INDUSTRY

- **VITAMINS**
  ROVIMIX®
  STAY-C®
  HY•D®
- **CAROTENOIDS**
  CAROPHYLL®
- **ENZYMES**
  RONOZYME®
  ROXAZYME®
- **ESSENTIAL OILS**
  CRINA®
- **ORGANIC ACIDS**
  VEVOVITALL®
  VEVODAR®
- **PROBIOTICS**
  CYLACTIN®
- **TRACE ELEMENTS**
  MICROGRAN®
  VEVOMIN™
- **PREMIXES**

DSM Nutritional Products offers a comprehensive range of high-quality products and innovative solutions for the feed industry to help our customers to meet the ever-increasing expectations of consumers.

Today and into the future, our commitment to the Feed Industry is unlimited.

DSM Nutritional Products Ltd.
P.O. Box 3255, CH-4002 Basel
Switzerland

www.dsmnutritionalproducts.com

Unlimited. DSM

Lactic acid bacteria and enzymes as silage additives

K Schöndorfer[1], G Böck[1], Y Acosta Aragon[2], G Schatzmayr[1]

[1] BIOMIN Research Center, Tulln, Austria
[2] BIOMIN GmbH, Herzogenburg, Austria

Introduction

Ensiling provides a means of conservation of forage and crops for use in animal feed. In order to assure high quality in silages, meaning that they are free from Clostridia, yeasts and moulds and their respective toxins, a multitude of biological and chemical silage additives are in use.

In contrast to chemicals the usage of lactic acid bacteria (LAB) poses a natural, non-corrosive and cheaper alternative to chemicals. Enzymes, typically in combination with LAB, are also promoted as silage additives to help degrade fibre to carbohydrates for use of LAB to accelerate lactic acid fermentation. However, the use and effect of enzymes has not yet been researched as well as LAB which makes the actual effectiveness of enzyme products difficult to assess (Kung, L. 2006).

The objective of the experiment was therefore to study the effect of an enzyme product containing cellulase and glucose oxidase as a silage additive alone or in combination with a mixture of LAB (*Enterococcus faecium, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus kefiri*).

Materials and Methods

A lab scale silage trial was carried out employing the following trial groups:

1. Mixture of LAB (Enterococcus faecium, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus kefiri) at a dosage of 1 x 10^6 cfu/g silage
2. Enzyme product (cellulase, glucose oxidase)
3. Combination of LAB and enzyme product (both at the recommended concentration)
4. Untreated control

Three model silos were ensiled per trial group and day of analysis. Silage was analysed 3, 7, 45 and 90 days after ensiling. The model silos contained 500 g of silage for Day 3 and Day 7 and 2.000 g for Day 45 and Day 90. The raw material used was lucerne, third cut.

On each day of analysis three silos were opened. The following parameters were analysed:

pH, dry matter content (DM), organic acids (via HPLC). Aerobic stability was also assessed via the measurement of temperature rise above ambient temperature according to Honig.

Nutrients were analysed by means of a Weender analysis in the Forage Lab Rosenau.

Results and Discussion

Dry matter loss

In direct comparison, as shown in Figure 1, the group to which only LAB were added showed the lowest loss of dry matter over the ensiling period. The loss was also decreased in the groups where the enzyme was added, but not that much. It is often stated that addition of LAB causes higher DM loss, however, this did not seem to be the case in this trial.

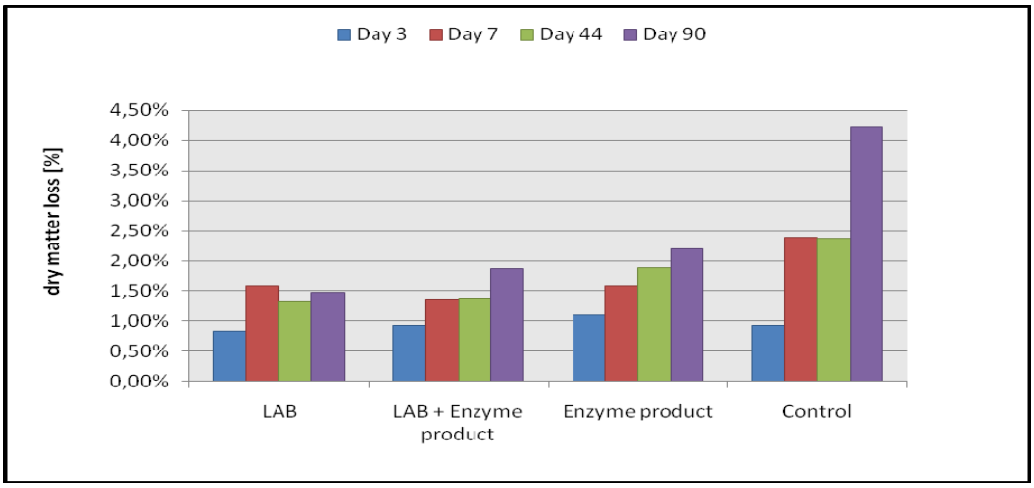


Figure 1 – Dry matter loss during 90 days of ensiling

Acidification

It can be taken from figure 2 that addition of LAB (with or without enzyme) resulted in a rapid pH-decrease whereas the group with only the enzyme product and the control acidify much more slowly. At the end of the trial all groups showed a statistically significantly lower pH-value than the control. The groups containing LAB were, however, even significantly below the group with the enzyme product. An abstract by Selmer-Olsen, I. 1994, suggests that the pH-value should be lower with enzymes than without. This was the case in this trial, but only numerically and only if no LAB were added.

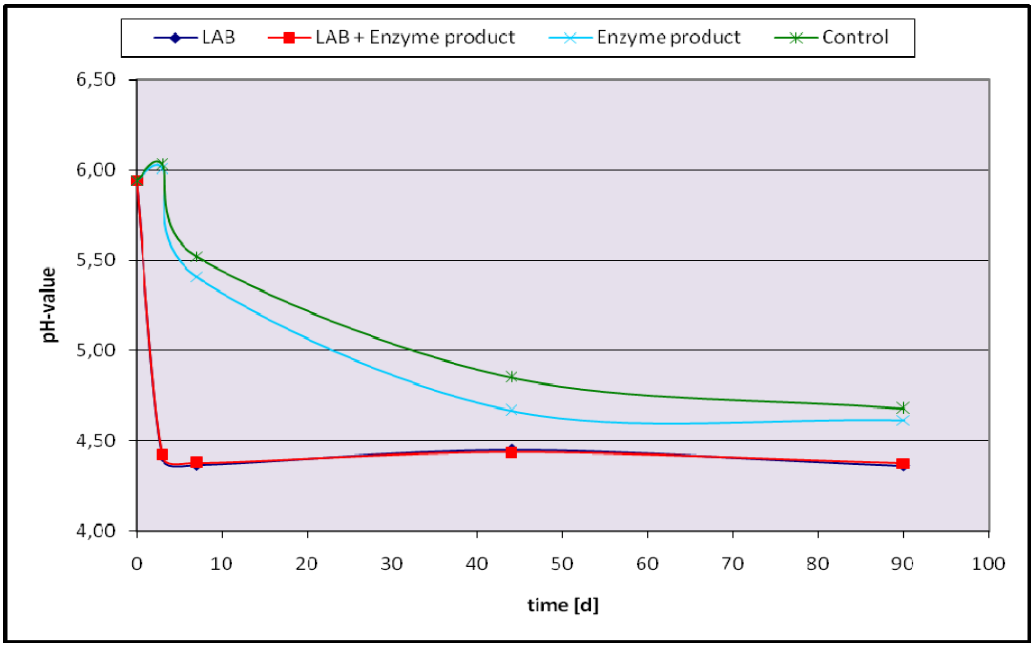


Figure 2 – Acidification in 90 days

Organic acids

Figure 3 shows that lactic acid fermentation is much faster in the groups with LAB than in the control or the group with the enzyme product alone. However, in the group with both LAB and enzyme product the lactic acid fermentation is not much faster than with LAB alone, as was anticipated. Instead lactic acid levels stay slightly below those of the LAB-only group from Day 7 until the end of the trial. From Day 44 there is a marked difference between the control and the enzyme product, but it never reaches the quality the LAB induce. Comparing with the degradation of glucose (Figure 4) it is seen that the enzyme sets free more sugar than the control. Glucose levels are about equal in both groups with added LAB, if slightly higher with added enzyme product.

Acetic acid levels (Figure 5) are very similar in the three trial groups until Day 44, but in the end the enzyme product leads to a slightly higher acetic acid content.

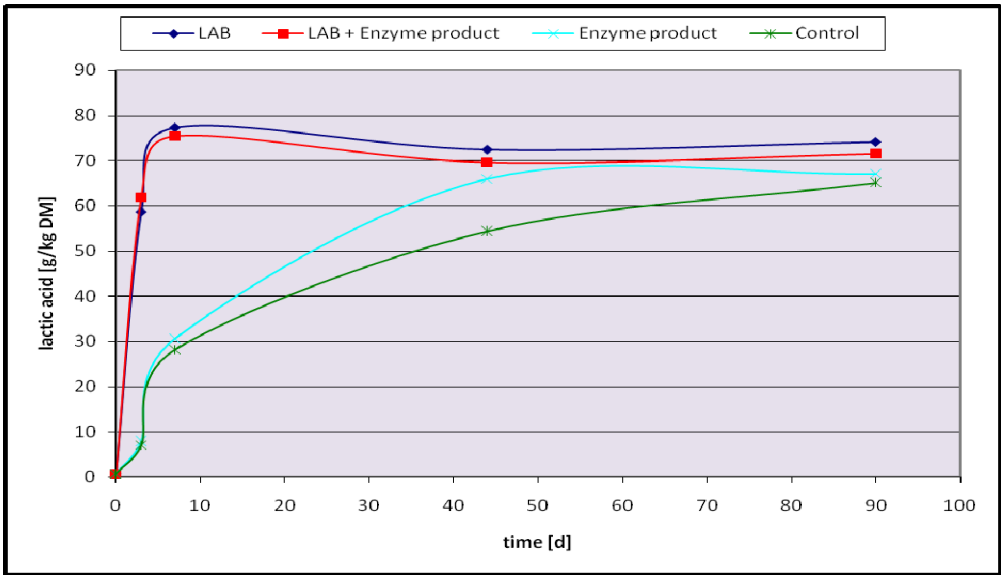


Figure 3 – Course of lactic acid during the ensiling period

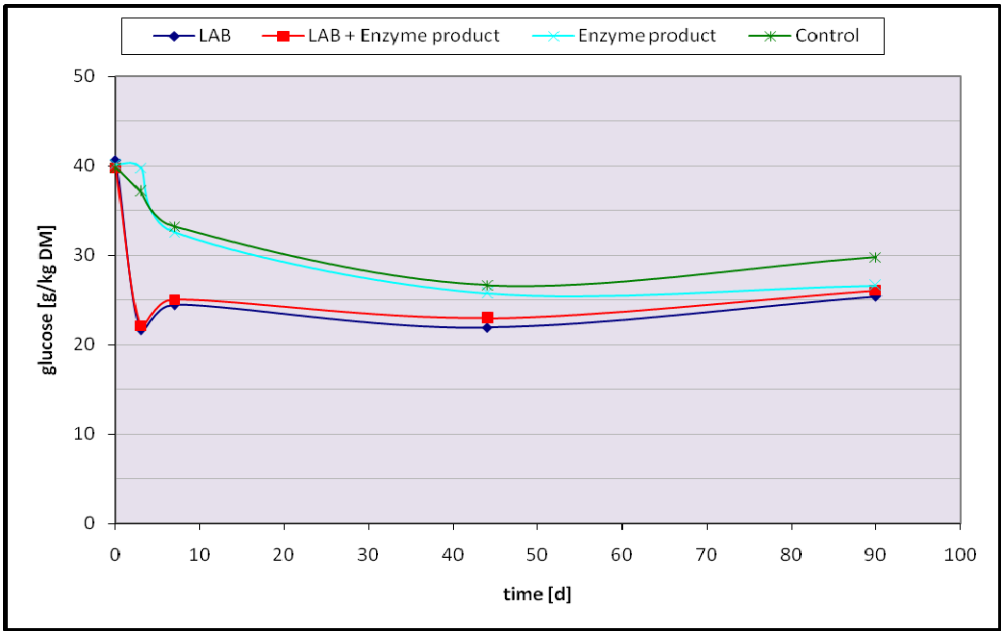


Figure 4 – Course of glucose during the ensiling period

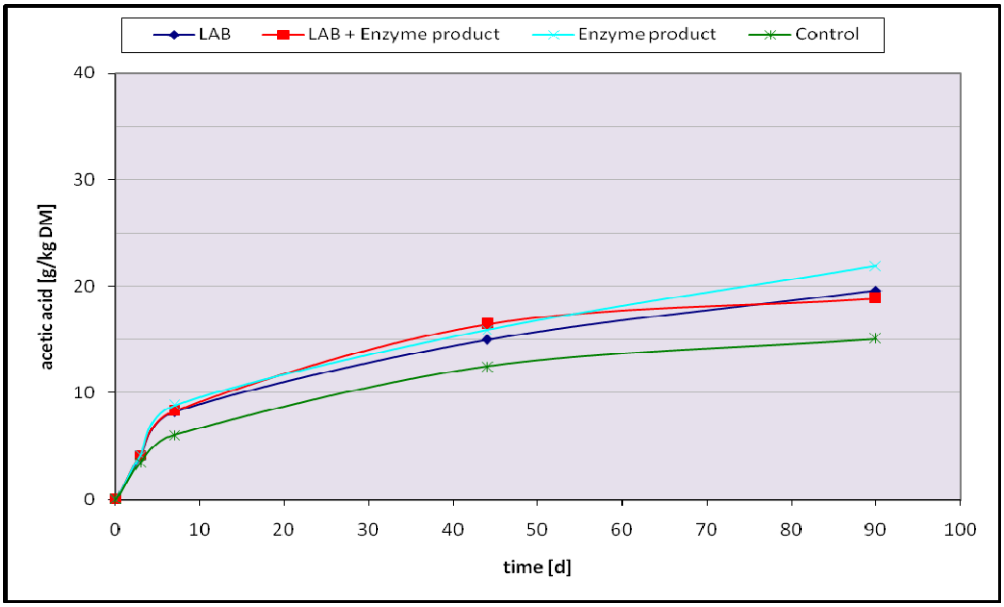


Figure 5 – Course of acetic acid during the ensiling period

Aerobic stability

Aerobic stability was excellent in all trial groups as well as in the control which is probably due to acetic acid levels higher than 15g/kg DM in all groups.

Nutrients and Ammonia-N

90 days after ensiling differences between the groups were very small, however, the two groups involving the enzyme product showed significantly reduced crude protein levels. On the other hand, LAB addition (with or without the enzyme product) lead to a significant decrease in ammonia nitrogen.

Conclusion

In this trial the use of LAB could significantly improve silage quality. The enzyme alone did not prove to suffice as a silage additive. Results for the enzyme product alone were only partly and only slightly better than for the control group.

Selmer-Olsen, I. 1994, stated that the effect of the enzyme was enhanced by inoculation of LAB. Considering these results this statement can be seconded, however, for this experiment it rather held true that an enzyme additive did not add a benefit when using LAB as a silage inoculant.

Autorenadresse
Karin Schöndorfer
BIOMIN Research Center
Technopark 1
3430 Tulln, Austria

Natürlich im Futter.

Biomin®

Steckbrief der BIOMIN Forschungsaktivitäten

52 wissenschaftliche Mitarbeiter in der **Forschung.**

Aktuell laufen 25 wissenschaftliche **Projekte.**

Insgesamt wurden von BIOMIN 276 wissenschaftliche Arbeiten **publiziert**.

Versuchsanlagen in Österreich (Ferkel 420 Plätze),
Thailand (Broiler 180.000 Plätze),
Thailand (Fischzucht 64 Tanks mit 20.000 Liter Volumen).

In den letzten fünf Jahren Zusammenarbeit mit ca. **100 Universitäten** und **Forschungseinrichtungen** auf der ganzen Welt.

Brainprogramm:
BIOMIN fördert Diplomarbeiten und Dissertationen zu fütterungsrelevanten Themen, um somit immer die neuesten wissenschaftlichen Erkenntnisse in die Praxis umsetzen zu können.

The B.R.A.I.N.
www.brain.biomin.net

BIOMIN GmbH, Industriestrasse 21, 3130 Herzogenburg, Austria
Tel: +43 2782 803 0, Fax: +43 2782 803 30
e-Mail: office@biomin.net

www.biomin.net

Organic acid supplementation enhances the performance of post-weaning piglets

Christian Lückstädt[1], Tobias Steiner[1], Sabine Nitsch[1], Nijole Kvietkute[2], Asta Stupeliene[2], Vilma Sasyte[2] and Romas Gruzauskas[2]

[1]BIOMIN GmbH, Herzogenburg, Austria
[2]Veterinary Academy of Lithuania, Kaunas, Lithuania

Introduction

Organic acids have been used for more than 30 years to reduce bacterial and mould growth in feedstuffs and thus preserve hygienic quality. In feed legislation they are registered as preservatives, but their beneficial effects on animal health and performance, if they are added to feed in adequate amounts, are also well documented. Acids used as feed additives are predominantly compounds that naturally occur in cell metabolism, thus they are natural products with low toxicity (Kirchgessner and Roth, 1988).

Health and performance promoting effects have been demonstrated for a number of organic acids, including formic, propionic, fumaric, citric and lactic acid and their salts. Besides improvement in hygiene and a corresponding reduction of pathogen intake, effects on feed digestion and absorption and on stabilisation of gut flora eubiosis have been demonstrated in a number of investigations. In animal husbandry, lower feed conversion ratios and improved daily gain, as well as reduced incidence of diarrhoea, enhances economic return by lower feed costs and reduced time requirements to attain market weight (Freitag, 2007).

The greatest response to supplementation with acids has been recorded in piglets, especially during the weaning period. During weaning pigs are exposed to a large variety of physiological and environmental stressors. Intensive research has therefore been directed to the potential of Natural Growth Promoters, like organic acids.

"The ban on antibiotic growth promoters creates significant opportunity for feed acidification" was stated in a report by Frost and Sullivan (2004). According to that report, there is a strong likelihood that the overall European animal feed acid market will grow from an estimated level of 191 million € in 2002 to more than 400 million € in 2009. This would more than double this market segment in seven years, leading to an average annual growth rate of around 16%. It was further stated that this rise reflects the industry's move away from antibiotic growth promoters and to acids as an alternative means for performance enhancement. Growth in this market segment is expected primarily in Southern and Eastern Europe, since the expansion of the European Union in 2004 offers suppliers the additional opportunity of markets with considerable growth potential (Lückstädt *et al.*, 2005).

The final conclusion of the report was that "acids emerge as a cost-effective, performance-enhancing option for the feed industry". Therefore, a renewed interest in organic acids as possible in-feed replacements for sub-therapeutic levels of antibiotics has occurred as a result of the ban on antibiotic growth promoters in the European Union (Mroz *et al.*, 2006).

In animal nutrition, acidifiers exert their effects on performance via three different mechanisms (Kirchgessner and Roth 1988): (a) in the feed; (b) in the gastro-intestinal tract of the animal; and (c) due to effects on the animal's metabolism (Table 1).

The most likely mechanisms by which organic acids improve feed conversion ratio and animal health include acidification, either of the feed or of the stomach, and/or the selective inhibition of pathogenic intestinal micro-organisms. They may also be absorbed along the digestive tract, providing an additional energy source for the animal (Roth *et al.*, 1993).

Table 1: Effects of organic acids and salts in animal nutrition (Kirchgessner and Roth 1988)

	Effective Form	Effects
Feed	H^+ H^+ and Anion	- pH reduction - reduction of acid binding capacity - reduction of microbial growth - antibacterial effects
Intestinal tract	H^+ Anion H^+ and Anion	- pH reduction in stomach and duodenum - improved pepsin activity - complexing agents for cations - ($Ca^{++,}$ Mg^{++}, Fe^{++}, Cu^{++}, Zn^{++}) - antibacterial effects - change in microbial concentrations
Metabolism		- energy supply

The aforementioned antibacterial effects can be either described as the action of organic acids in the gastric or intestinal lumen as bactericidals ("bacteria killers") or bacteriostatics ("bacterial wall permeabilizers")-(Mroz *et al.*, 2006). Especially the undissociated forms of organic acids can permeabilize and/or diffuse across cell membranes of pathogen gram-negative bacteria and thereby destroying their cytoplasm or inhibiting the growth of the bacteria by inactivating their metabolic processes (bacterial decarboxylases and catalases).

Since most research is still dedicated towards the use of single acids or their salts as a feed additive in non-ruminants (Metzler and Mosenthin, 2007), this study aimed at establishing the effects of an acid blend on the performance of post-weaning piglets.

Material and methods

The trial was conducted in a commercial pig farm under the surveillance of the Veterinary Academy of Lithuania. The aim of the trial was to test the acidifier Biotronic®, an organic acid blend consisting of equal amounts of formic and propionic acids and their salts on a sequential release medium (3 kg per t of feed), against a commercial piglet diet (Tables 2 and 3) containing no acidifying additive. Feed and water were available *ad libitum*.

Table 2: Formulation of basal diets

Ingredients	Feeding period, %	
	I (day 1-15)	II (day 16-28)
Barley	16.000	21.000
Wheat	48.995	51.995
Soybeanmeal Solv Extr 48	24.000	18.000
Sugarbeet pulp	4.000	2.000
Fodder yeast	0.610	0.860
Soy oil	1.000	1.000
Premix	0.700	0.500
Monocalcium phosphate	2.000	2.000
Limestone	1.500	1.500
Salt	0.300	0.300
L – Lysine HCL	0.450	0.450
DL – Methionine	0.160	0.120
L –Threonine	0.180	0.170
Enzyme blend (Rovabio Exel AP)	0.005	0.005
Mycotoxin deactivator (Mycofix® Plus)	0.100	0.100

Table 3: Proximate composition of basal diets

	Feeding period, %	
	I	II
Metabolizable energy, (MJ/kg)	12.21	12.18
Crude protein, %	20.83	18.84
Crude fat, %	2.94	2.95
Crude fibre, %	3.56	3.29

52 piglets (Pietrain x Yorkshire x Landrace hybrid), 35 days of age, were randomly selected and allotted litter wise to 2 treatment groups. The trial lasted for a period of 28 days. Performance data were measured on a bi-weekly basis and data generated out of the trial were analysed by means of ANOVA (SPSS 14.0).

Results

The effects of the acidifier treatment (3 kg Biotronic® per t of feed) on performance of weaned piglets are shown in Tables 4, 5 and 6.

After 28 days' treatment, piglets in the acidifier group weighed 30.77 kg compared to 29.31 kg in the negative control group; and the final BW of 63 day old piglets differed numerically ($P = 0.186$). Based on the average daily weight gain, a numerical enhancement of more than 11% was observed (708 g vs. 634 g for treatment and control, respectively; $P = 0.115$). The feed conversion ratio was improved by approximately 3% (1.67 and 1.72 for treatment and control, respectively).

Table 4: Development of live weight

	Control	Acidifier	P-value	SEM
Dosage	--	3 kg/ton		
no. animals	27	25		
weight day 1 (kg)	11.55	10.93	0.309	0.2999
weight day 15 (kg)	20.49	20.47	0.988	0.4668
weight day 28 (kg)	**29.31**	**30.77**	**0.186**	**0.5480**

Table 5: Development of average daily weight gain

	Control	Acidifier	P-value	SEM
day 1 – 15 (g)	596	635	0.611	38.145
day 16 – 28 (g)	679	792	0.246	48.428
day 1 – 28 (g)	**634**	**708**	**0.115**	**23.285**

Daily weight gain was improved by more than 6% during feeding phase 1. In feeding phase 2, the difference between the treament and the control group amounted to nearly 17%. The feed conversion ratio showed an improvement of 1.4% in feeding phase 1 and 4% in feeding phase 2.

Table 6: Feed conversion ratio during the trial period

	Control	Acidifier
day 1 – 15	1.38	1.36
day 16 – 28	2.06	1.97
day 1 – 28	**1.72**	**1.67**

Discussion and conclusion

Although piglets in the group supplied with 3 kg acidifier per kg of finished feed started with an average initial weight 0.60 kg less than those in the control group, the difference in weight was compensated over the course of the trial and exceeded the control animals by 1.5 kg at the end of the trial period (day 28). The total daily weight gain was improved by 12% while the feed conversion ratio was lowered by 3%. Since feed costs account for roughly 50% of total production costs (Waxenecker, 2007, personal communication) an improved production economy, with lower feed costs but higher weight gains are the result of the application of the acidifier. The addition of the acidifier had no influence on the mortality of the animals.

Regarding the weight data and SEM, it is clear that the application of the acidifier based on formic acid, propionic acid and their salts on a sequential release medium, led to a reduced variation in liveweight gain and improved the homogeneity within the group.

As a result of the enhanced growth, around two days to the market could be saved, thus allowing more yearly rotations in the unit. It can be concluded therefore that the use of the acidifier Biotronic® increased performance of piglets and thus the overall economic of piglet production under European conditions.

References

Freitag, M. (2007): Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. In: Acidifiers in Animal Nutrition – A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance. Edited by C. Lückstädt. pp. 1-11. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Kirchgessner M. and Roth F.X. (1988): Ergotrope Effekte durch organische Säuren in der Ferkelaufzucht und Schweinemast. Übersichten zur Tierernährung 16: 93-108.

Lückstädt, C., Jones, G., Kroismayr, A. and Nies, W. (2005): A new organic acid-phytobiotic blend – a sustainable solution for natural growth promotion in pig farming. Tagungsband 4. BOKU-Symposium Tierernährung: 201-204.

Metzler, B. and Mosenthin, R. (2007): Effects of organic acids on growth performance and nutrient digestibilities in pigs. In: Acidifiers in Animal Nutrition – A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance. Edited by C. Lückstädt. pp. 39-54. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Mroz, Z., Koopmans, S.J., Bannink, A., Partanen, K., Krasucki, W., Øverland, M. and Radcliffe S. (2006): Carboxylic acids as bioregulators and gut growth promoters in nonruminants. In: Biology of Nutrition in growing Animals. Edited by R. Mosenthin, J. Zentek and T. Żebrowska. pp. 81-133. Elsevier, London, UK.

Roth, F.X., Kirchgessner, M. and Eidelsburger, U. (1993): Nutritive value of lactic acid in piglet rearing. Agribiological Research 46: 229-239.

Corresponding author

Dr. Tobias Steiner
Biomin GmbH
Industriestrasse 21, A-3130 Herzogenburg
e-Mail: tobias.steiner@biomin.net

Iron status evolution of weaned piglets either fed iron sulfate or iron glycinate

P. Schlegel[1], S. Durosoy[1] and M. Dupas[2]

[1]Pancosma S.A., Voie des Traz 6, 1218 Geneva, Switzerland.
[2]IDENA, 21 rue du Moulin, 44880 Sautron, France.

Introduction

Anemia, related either to iron (Fe) or copper (Cu) deficiency, is one of the major metabolic disorders in weaned piglets. Following the stress of weaning, along with the highly variable feed intake, digestive disorders and increasing daily Fe requirements, piglet's iron status is critical. As an example, Gérard (2000) reported hemoglobin (Hb) levels of weaned piglets on French farms averaging 10.6 g/dl, with a variation between 3.0 and 14.6 g/dl, indicating high heterogeneity within herds; the heavier piglets were anemic to a major extent. Piglet's Hb should not reach levels below 8 g/dl and levels above 10 g/dl are considered as optimal.

Two recent studies demonstrated an increased Fe absorbability of 33% (Ettle et al. 2007) and of 22% (Männer et al. 2006) in piglets when feeding a proven (Oguey et al, 2007) organic form (crystalline iron glycinate, B-TRAXIM® 2C Fe) compared to iso-dosed Fe from inorganic $FeSO_4$. The improved Fe absorbability resulted in higher piglet's Hb levels (+13% in Männer et al., 2006). Iron absorbability of the supplied dietary Fe therefore plays a major role in influencing the piglet's Hb status.

The aim of this study was to investigate, under practical conditions, the effect of two supplied dietary iron sources (inorganic $FeSO_4$ and organic crystalline iron glycinate) on the iron status of weaned piglets.

Materials and Methods

A total of 384 twenty-one day old weaned piglets [(Large White*Landrace)*(Large White*Pietrain)] with average body weight (BW) of 6.0 kg, were assigned at weaning (day 0) on BW, gender and litter origin to two blocs of 16 slotted pens each.

Piglets were fed, ad-libitum, a basal weaner diet (day 0-21) followed by a basal starter diet (day 21-42). Weaner and starter basal diets were formulated on wheat, barley, soy and contained 11.2 and 10.2 MJ/kg NE, 19.7 and 17.7 g/kg CP, respectively. Basal diets were not Fe supplemented. Next to the diet, piglets had free access to drinking water (0.03 mg Fe / l).

Following dietary treatments were fed from day 0 to 42:

1. basal weaner and starter diets supplemented with 100 mg/kg Fe from $FeSO_4$;
2. basal weaner and starter diets supplemented with 100 mg/kg Fe from crystalline iron glycinate (FeGly, B-TRAXIM® 2C Fe, Pancosma S.A., Switzerland).

Prior study, piglets had free access to a commercial creep feed and were injected with 100 mg of iron dextran (day 3 to 5 after birth).

Blood samples were collected on two identified piglets (one female, one castrated male) per pen on days 0, 21 and 42 for Hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht) and red blood cell count (RBC) analysis. Blood analysis was conducted through laboratory LDA 22, Ploufragan, France. In addition, Hb was measured on the same identified piglets using a kit (Hemocue®, Meaux, France) on days 0, 2, 4, 7, 11, 14, 18 and 21. The Hemocue® kit was initially developed for rapid and convenient human Hb analysis.

Results were analyzed using GLM procedure with treatment and bloc as factor. Hb values from Hemocue® were analyzed using repeated measure ANOVA procedure. Comparison between Hb values from laboratory analysis and Hb value by Hemocue® was conducted with linear regression.

Results and discussion

Analyzed dietary Fe contents were 206 mg/kg Fe for the weaner and 233 mg/kg Fe for starter diets.

Hemoglobin and Ht levels are expected in ranges of respectively 10 – 15 g/dl and 30 – 50 %. Compared to the overall average of 8.26 g/dl Hb and 29% Ht in this study (table 1), piglets could generally be considered as sub-optimally supplied with iron and were close to anemia (<8 g/dl Hb). Recommended dietary Fe is evaluated at 80 mg/kg for weaned piglets (NRC, 1998). The present diets contained Fe concentrations above 200 mg/kg, which was not sufficient to reach adequate Fe status. But the supply of diets containing about 200 mg/kg Fe permitted piglets to improve their initial Fe status: Within 42 days, piglets supplemented with $FeSO_4$ or FeGly increased Hb level by 1.8% and 6.2% respectively (table 1). During the same time period, Ht evolved positively by +5.8% for $FeSO_4$ and +8.8% for FeGly.

Table 1. Hb, Ht and RBC on day 0, 21 and 42 from piglets fed either iron sulfate or iron glycinate.

		Treatment		p - value	
Item	Day	$FeSO_4$	FeGly	Treatment	Tr x bloc
Hemoglobin	0	8.08 ±1.40	8.59 ±1.59	n.s.	n.s.
[g/dl]	21	7.23 ±1.57	8.35 ±0.96	< 0.05	n.s.
	42	8.23 ±0.76	9.12 ±0.86	< 0.001	n.s.
Hematocrit	0	27.8 ±4.2	29.7 ±5.2	n.s.	n.s.
[%]	21	26.0 ±2.6	29.2 ±3.2	< 0.001	n.s.
	42	29.4 ±2.6	32.3 ±2.9	< 0.001	n.s.
Red blood cells	0	5.00 ±0.80	5.21 ±0.64	n.s.	n.s.
[$10^6/mm^3$]	21	5.68 ±0.51	5.97 ±0.59	< 0.10	< 0.10
	42	6.85 ±0.46	7.01 ±0.67	n.s.	n.s.

On day 21, piglets fed FeGly had increased Hb levels (+15.5%, $p<0.05$); increased Ht (+12.3%, $p<0.001$) and increased RBC (+5.1%, $p<0.10$) compared to $FeSO_4$. On day 42, Hb and Ht were again

increased ($p<0.001$) for FeGly compared to $FeSO_4$. The results of improved Hb level using FeGly compared to $FeSO_4$ are compatible with the results by Männer et al. (2006). When comparing the efficacy of Fe proteinates to $FeSO_4$, on Hb levels in weaned piglets, Lewis et al. (1999) did not measure any difference. Yu et al. (2000) compared 120 mg/kg Fe from a non specific Fe amino acid complex to iso-dosed Fe from $FeSO_4$ and measured and improvement in Hb of 10% at two weeks post-weaning with the organic Fe source.

The distribution of piglet's Fe status, using Hb as criteria, is illustrated in table 2. On weaning (day 0), half of the piglets were anemic (Hb<8.0 g/dl) and only 12.5% were in an adequate situation with Hb levels above 10 g/dl. On day 21, piglets fed $FeSO_4$ were mostly anemic (71.0%), whereas the situation improved with FeGly counting 29.0% anemic piglets. A low number of piglets had an adequate Hb status on day 21. At the end of the study (day 42), 41.4% of the piglets fed $FeSO_4$ were still anemic, and only a limited proportion was considered as adequate. When FeGly was fed the proportion of anemic piglets was further reduced to 11% and piglets with adequate status reached 18%.

Table 2. Percent of anemic and adequate piglets fed either iron sulfate or iron glycinate.

		Treatment	
Category	Day	$FeSO_4$	FeGly
Anemic	0	53.1%	40.6%
< 8.0 g/dl	21	71.0%	29.0%
	42	41.4%	10.7%
Normal	0	12.5%	12.5%
> 10.0 g/dl	21	3.2%	3.2%
	42	3.4%	17.9%

These results suggest that feeding FeGly instead of $FeSO_4$ to piglets, mainly reduced the proportion of anemic (Hb<8.0 g/dl) piglets (table 2) which influenced in a positive way, the average Hb level (table 1). The homeostatic Fe regulation maximizes Fe absorption and minimizes endogenous Fe losses when the metabolism reaches deficiency. A highly absorbable iron source (compared to $FeSO_4$) leads therefore to an improved iron status in weaned piglets being in a sub-optimal situation.

The interest in measuring Hb with a kit (Hemocue®) was first to verify if such a convenient and rapid tool would be appropriate for Hb measurements in piglets and secondly to study the piglet's Hb evolution intensively over the first 21 days post weaning.

The correlation between Hb analysed in the laboratory and Hb from the same animals and day analysed by Hemocue® (figure 1) was significant ($p<0.001$). The dataset of 125 values per analysis method resulted in a R^2 of 0.75. Based on these results, the hemocue® Hb analytical kit would be a reliable method for evaluating the Hb status of a piglet population.

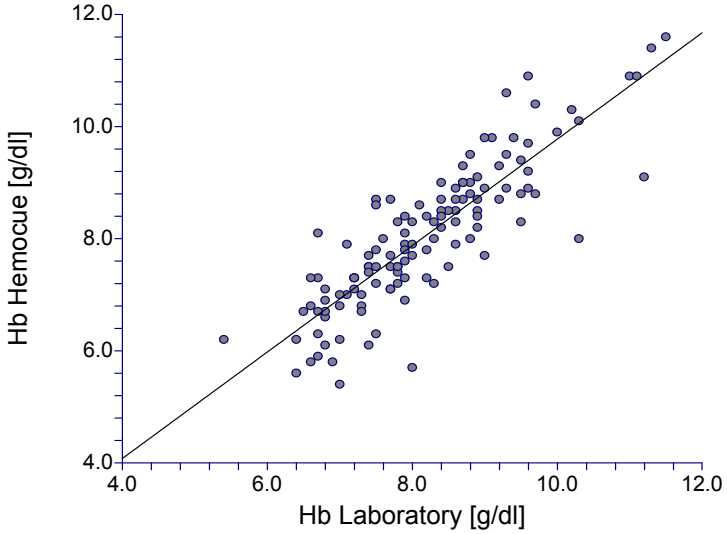


Figure 1. Regression between Hb measured in the laboratory and the Hemocue® kit..

The Hb evolution for the first 21 days (Figure 2) was variable over time (day effect: $p<0.10$). During the first two days, Hb level decreased and reached initial levels between day 7 and 11. From then on, a second Hb depression occurred on day 18. Between day 18 and 21, Hb levels increased. This Hb evolution may be correlated to the feed intake evolution which typically presents a similar pattern (Brooks and Tsourgiannis, 2003). The difference in Hb evolution between iron sources was significant ($p<0.05$). Hb was hardly above 8 g/dl with $FeSO_4$ and hardly below 8 g/dl with FeGly. There was no interaction between Fe source and day ($p>0.10$).

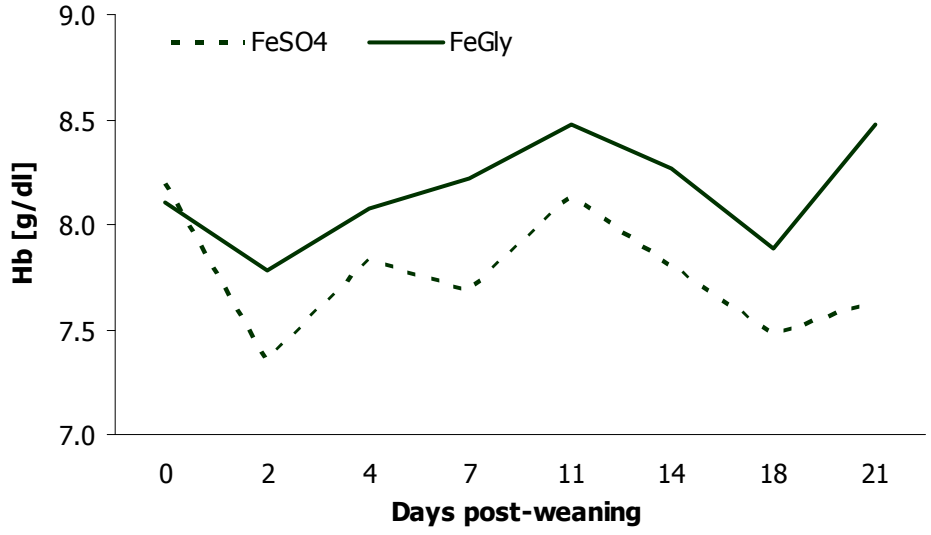


Figure 2. Hemoglobin evolution of piglets fed either iron sulfate or iron glycinate.

Conclusion

This iron study leads to following conclusions:

- A weaner and starter diet containing both iron concentrations close to 200 mg/kg were not sufficient for an optimal Fe status, when using Hb and Ht as parameters.

- Previous studies have reported an increased Fe absorbability using crystalline iron glycinate (B-TRAXIM® 2C Fe) compared to iron sulfate. In this study, crystalline iron glycinate (B-TRAXIM® 2C Fe) improved piglet's Hb status and especially the one from anemic individuals when compared to $FeSO_4$. With 100 mg/kg Fe from the studied organic source, a limited number of piglets were anemic.

- The Hb analysis kit Hemocue® is an appropriate tool to evaluate the Hb status of weaned piglets.

References

Brooks P. H. and Tsourgiannis C. A. (2003). Factors affecting voluntary feed intake of the weaned pig. In: Weaning the Pig. Concepts and Consequences. (J.R. Pluske, J. Le Dividich, M.W.A. Verstegen, eds), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, pp. 81-116.

Ettle T., Schlegel P. and Roth F. X. (2007): Investigations on iron bioavailability of different sources and supply levels in piglets. J. Anim. Phys. and Anim. Nutr. (in press).

Gérard C. (2000) : Les besoin de fer revus à la hausse. Réussir Porc 58, 26-27.

Lewis A. J., Chen H.-Y. and Miller P. S. (1999): Bioavailability of iron in iron proteinate for weanling pigs. J. Anim. Sci. 77, supp 1, 61.

Männer K., Simon O. Schlegel P. (2006): Effects of different iron, manganese, zinc and copper sources (sulphates, chelates, glycinates) on their bioavailability in early weaned piglets. In: Rodehutscord M. (Ed.): 9. Tagung Schweine- und Geflügelernährung. Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Universität Halle-Wittenberg. Deutschland. ISBN: 3-86010-833-6, 25-27.

NRC (1998): Nutrient requirements of swine. 10th rev. Natl. Acad. Press, Washington, DC, U.S.A.

Oguey S., Neels A. and Stoeckli-Evans H. (2007): Chemical identity of crystalline trace mineral glycinates for animal nutrition. In: Schlegel P. Durosoy S. and Jongbloed A. W.: OTEANE 2007. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands. (in press).

Yu B., Huang W.-J. and Chiou P. W.-S. (2000): Bioavailability of iron from amino acid complex in weanling pigs. Anim. Feed Sci. and Techn. 86, 39–52.

Corresponding author

Patrick Schlegel
Pancosma S.A.
Voie des Traz 6
1218 Le Grand-Saconnex / GE
Switzerland
e-mail : patrick.schlegel@pancosma.ch

B-TRAXIM®

Hoch verfügbare Spurenelemente

zum Nutzen von Mensch, Tier und Umwelt.

Pancosma S.A.
Voie-des-Traz 6 - CH-1218 Le Grand-Saconnex - Genf - Schweiz
Tel.: +41 (0) 22 929 84 84 - Fax: +41 (0) 22 929 84 95
Website: www.pancosma.com - E-mail: info@pancosma.ch

Pancosma

Spurenelementstatus von Milchkühen – eine Feldstudie

G. Dusel[1], F. Zeller[1], C. Rapp[2]

[1] Fachhochschule Bingen, Fachbereich 1 - Life Sciences, Bingen, Deutschland
[2] Zinpro Animal Nutrition, Boxmeer, Niederlande

Einleitung

Der Bedarf an Spurenelementen für die verschiedenen Tierarten wurde meist am Auftreten von Mangelerscheinungen, die für ein bestimmtes Spurenelement charakteristisch sind, ermittelt. Essentielle Spurenelemente übernehmen im Organismus spezifische Funktionen bei bestimmten Stoffwechselvorgängen und müssen daher leistungsgerecht über die Fütterung bereitgestellt werden. Unter diesen Elementen verdienen in der aktuellen Fütterungspraxis insbesondere Kupfer, Zink, Selen und Mangan spezielle Berücksichtigung.

Was die Supplementierung von Spurenelementen in Futterrationen betrifft, so wurden bisweilen hauptsächlich Spurenelemente in anorganischer Form (z.B. als Sulfate) eingesetzt. Neuere Literatur bemerkt, dass Spurenelemente in organischer Bindungsform nur dann Vorteile haben, wenn die gesamte Zufuhr unterhalb des Bedarfs liegt, da die wahre Absorption durch die homöostatische Regulation von der Versorgungshöhe abhängig ist.

Auch Interaktionen zwischen einzelnen Spurenelementen im Bereich des Verdauungstraktes und des intermediären Stoffwechsels können sich bei der Adsorption und im Stoffwechsel positiv oder negativ auswirken.

Um den Spurenelementstatus landwirtschaftlicher Nutztiere zu ermitteln, bedarf es der Analyse eines oder mehrerer Indikatororgane. Bei diesen möglichen Organen handelt es sich z.B. um Leber, Nieren, Blut, Deckhaar oder Milch. Nicht jedes dieser Organe ist jedoch für die Widerspiegelung des Status aller Spurenelemente geeignet.

Ziel dieser Untersuchung war es eine Statuserhebung der Spurenelement-versorgung für Kupfer, Zink und Mangan von Milchvieherden in Rheinland-Pfalz durchzuführen. Dazu sollten die Spurenelementgehalte der Futterrationen laktierender und trockenstehender Kühe sowie Färsen hinsichtlich der Empfehlungen (GfE, 2001) überprüft werden. Als Indikatorparameter sollte das Deckhaar der Tiere dienen. Des Weiteren wurde in dieser Untersuchung die Korrelation zwischen der Spurenelementversorgung, dem Indikatorparameter Deckhaar und den Leistungsparametern der Milchviehherden überprüft.

Material und Methoden

Für die Untersuchung wurden 40 Milchviehbetriebe, mit einer Herdengröße von mindestens 50 Kühen und Futtervorlage in Form der Totalen Mischration (TMR) in Rheinland-Pfalz ausgewählt. Im Zeitraum Ende November bis Mitte Dezember 2005 erfolgten, die Probenahme von Futterrationen und Deckhaaren. Von der TMR laktierender Kühe sowie der Trockensteher bzw. Färsen wurden

repräsentative Futterproben direkt bei der Ausdosierung durch den Mischwagen am Futtertisch gezogen. In diesen TMRs wurde der Kupfer-, Mangan- und Zinkgehalt analysiert. Des Weiteren wurde auf jedem der untersuchten Betriebe Deckhaarproben von je drei laktierenden Kühen (50. bis 150. Melktag), drei Trockenstehern und drei tragenden Färsen (jeweils im letzten Drittel der Trächtigkeit) genommen. Das Deckhaar (10 bis 20 g) wurden am Widerrist mittels elektrischer Schermaschine abgeschnitten. Nach dem Scheren wurden die Haare in einem mehrstufigen Prozess mit Hexan-Dimethylethergemisch gewaschen, getrocknet und innerhalb der jeweiligen Betriebe und Tierkategorie zu Sammelproben gepoolt (40 Betriebe x 3 Tierkategorien = 120 Sammelproben). Anschließend wurde im Druckaufschluss (Salpetersäure und Wasserstoffperoxyd) die organische Substanz zerstört und schließlich mittels AES-ICP der Gehalt an Kupfer, Mangan und Zink analysiert (VDLUFA, 2003).

Die beprobten Betriebe sind Mitglied im Landeskontrollverband (LKV) und verschiedener Milchviehberatungsringe, so dass die Leistungs- und Fruchtbar-keitsparameter über die LKV-Daten bzw. Kuhplaner erfasst werden konnten. Es wurde für jeden Betrieb der Herdendurchschnitt nachfolgender Leistungsdaten erfasst: Milchleistung, Milchzellzahl, Zwischenkalbezeit (ZKZ), Besamungsindex (BI), Remontierungsrate sowie das Verhältnis ♂/♀ Kälber. Die Daten beziehen sich, mit Ausnahme der Milchzellzahl jeweils auf den Auswertungszeitraum. Bei der Milchzellzahl wurden die Daten von einen Monat vor bis einen Monat nach der Probenahme erfasst.

Die statistische Analyse umfasst die Berechnung von Mittel-, Min-Max-Wert, Standardabweichung sowie Korrelations- und Regressionsanalyse. Unterschiede mit $p<0.05$ werden als signifikant bezeichnet.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der Spurenelementgehalte über die eingesetzten Rationen (Laktation, Trockensteher/Färsen) zeigt eine hohe Variation. Im Mittelwert liegt die Spurenelementversorgung mit Kupfer, Zink und Mangan bei der TMR für laktierende Kühe auf einem relativ hohen Niveau, das aber letztlich nicht, hinsichtlich der Toxizität, als bedenklich Einzustufen wäre. Einzelne Betriebe zeigen jedoch eine Unter- bzw. Überversorgung die als kritisch zu betrachten ist. In den TMRs für laktierende Kühe schwankten die Konzentrationen an Kupfer von 7,4 bis 46,7 mg/kg TM, bei Mangan von 37,4 bis 186 mg/kg TM und Zink von 50,1 bis 150 mg/kg TM. Bei der Trockensteher/Färsen-TMR variierte die Konzentrationen an Kupfer von 5,1 bis 31,4 mg/kg TM bei Mangan von 39,6 bis 264 mg/kg TM und Zink von 26,9 bis 140 mg/kg TM.

Bei den Trockenstehern/Färsen-TMR fällt auf, dass bei mehr als der Hälfte der Betriebe die Kupferkonzentration in der Ration unter der Versorgungsempfehlung von 10 mg/kg Futtertrockenmasse liegt (Abbildung 1). Der Kupferstatus der Kuh sinkt gegen Ende der Trächtigkeit erheblich ab, weil verstärkt Kupfer auf den Fötus (Kalb) übertragen wird. Dies kann zu einem Kupfermangel des Muttertieres führen. BRANUM et al. (1998) fanden bei Kühen im Kupfermangel eine erhöhte Zellzahl im Kolostrum. Dies deutet auf eine geschwächte Immunabwehr des Euters bei Kühen mit Kupfermangel hin. In der vorliegenden Untersuchung lagen sowohl die Kupferkonzentration (Abbildung 3) als auch die Zinkkonzentration (ohne Abbildung) im Haar der Trockensteher stets oberhalb der Grenzwerte (ANKE und RISCH, 1979). Trotz der als oberhalb der Norm liegenden Kupferwerte im Deckhaar wiesen die 25% Betriebe mit der niedrigsten Kupferversorgung bei den Trockenstehern/Färsen eine deutlich höhere Milchzellzahl auf als die Betriebe mit einer höheren Kupferzufuhr (Tabelle 1). Die ausreichende Versorgung der Trockensteher mit Spurenelementen und insbesondere Kupfer ist ein Punkt der in der Praxis stärkere Beachtung finden sollte.

Obwohl die Mangankonzentration in der Trockensteher/Färsen-Ration in den meisten Betrieben oberhalb der Empfehlungen lag, ist der Manganstatus der Trockensteher, gemessen an der

Mangankonzentration im Haar, in den meisten Betrieben als nicht ausreichend einzustufen (Abbildungen 2 und 4). SPIEKERS et al. (1991) fanden eine positive Korrelation zwischen dem Asche- und Mangangehalt in Grassilage. Ein großer Teil des im Boden enthaltenen Mangans liegt in Oxidform vor, das eine relativ geringe Verfügbarkeit aufweißt. Somit könnten hohe Mangangehalte in Grassilage betonten Rationen auf Verunreinigungen durch Boden zurückzuführen sein. Da es sich hierbei um vorwiegend gering verfügbares Mangan handelt, ist bei fehlender Manganergänzung, eine Manganunterver-sorgung denkbar. Auf der anderen Seite stellt sich jedoch auch die Frage nach der Gültigkeit des Referenzwertes für Mangan im Haar.

Die Konzentration an Kupfer, Mangan und Zink im Haar der tragenden Färsen stimmt mit dem der Trockensteher gut überein (ohne Tabelle oder Abbildung). Bei den laktierenden Kühen lag die Konzentration in der TMR an Kupfer, Mangan und Zink in der Regel über den entsprechenden Werten für die Trockensteher. Die Gehalte dieser Elemente im Haar stimmten jedoch recht gut mit denen bei den Trockenstehern überein.

Es wurde keine signifikante Korrelation zwischen den Konzentrationen von Kupfer, Mangan und Zink im Haar und den Konzentrationen der jeweiligen Elemente im Futter gefunden.

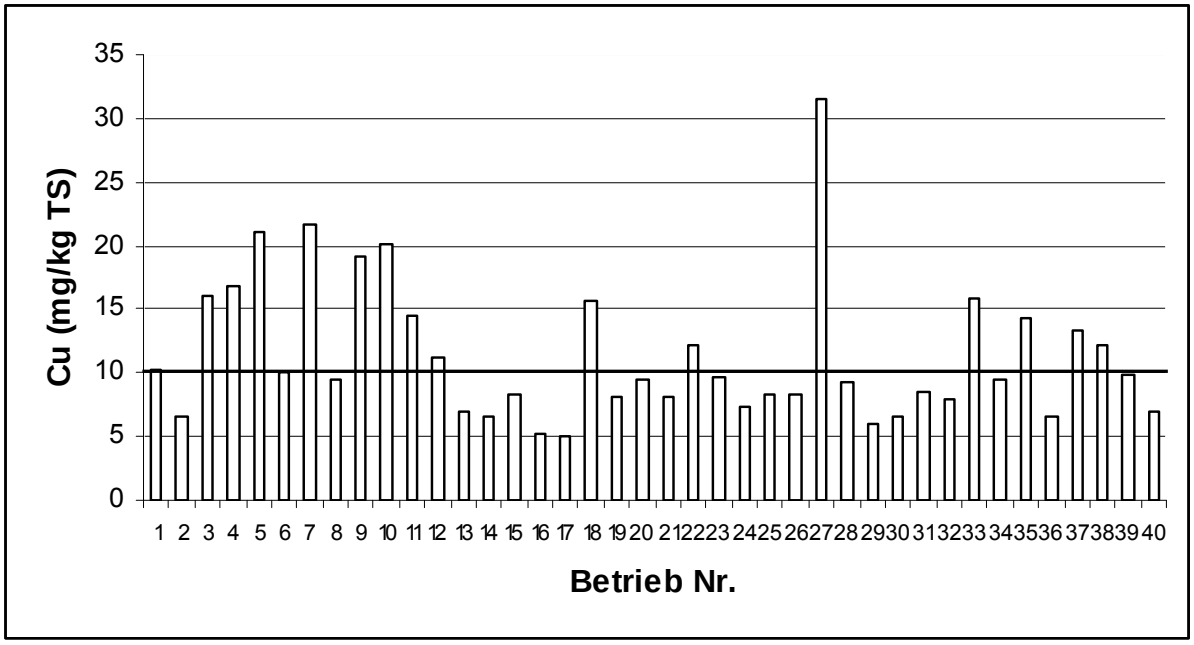


Abbildung 2: Kupfergehalte der Futterrationen für Trockensteher/Färsen (horizontale Linie = Empfehlungswert nach GfE, 2001)

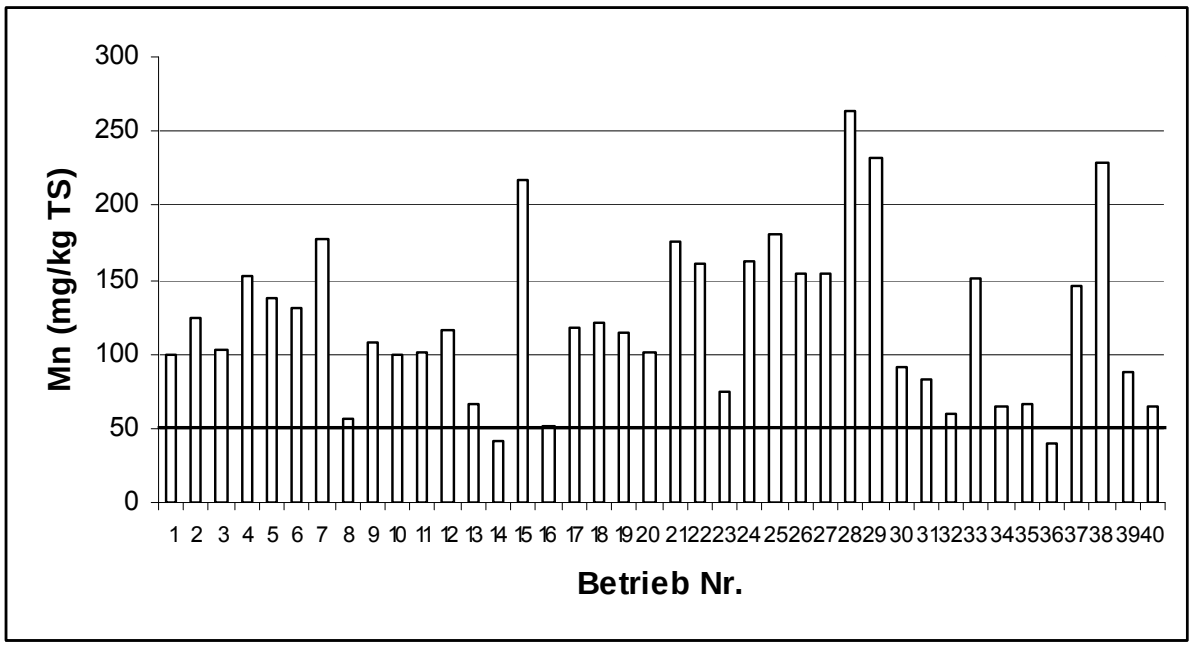


Abbildung 3: Mangangehalte der Futterrationen für Trockensteher/Färsen (horizontale Linie = Empfehlungswert nach GfE, 2001)

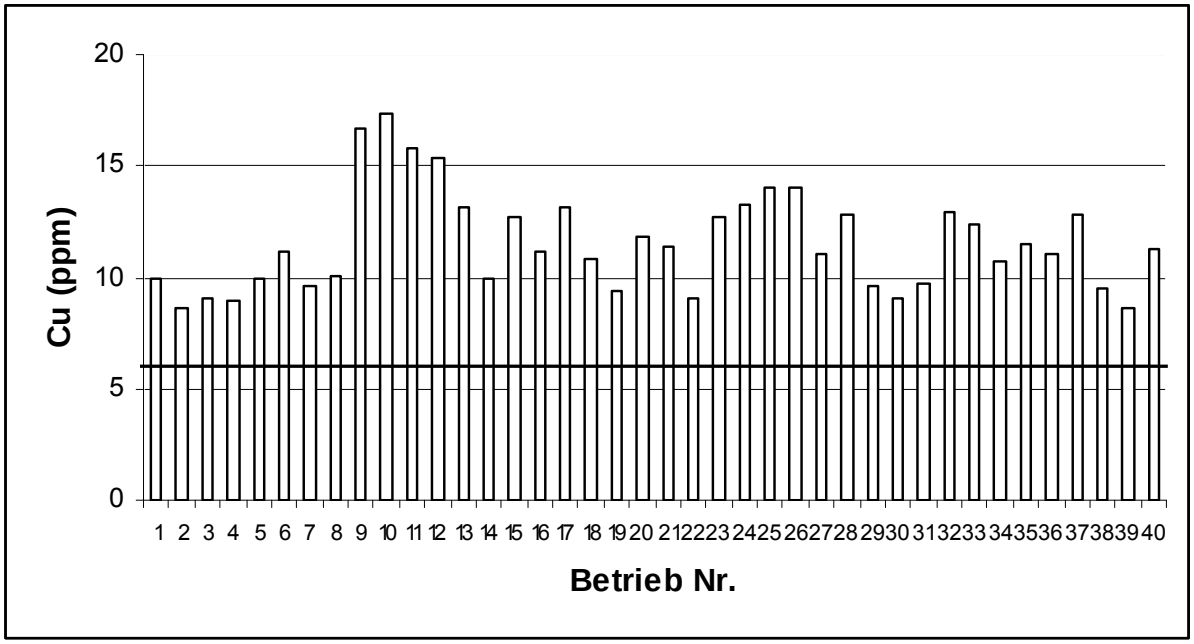


Abbildung 4: Kupfergehalte der Haarproben der Trockensteher (horizontale Linie = Grenzwert nach ANKE und RISCH, 1979)

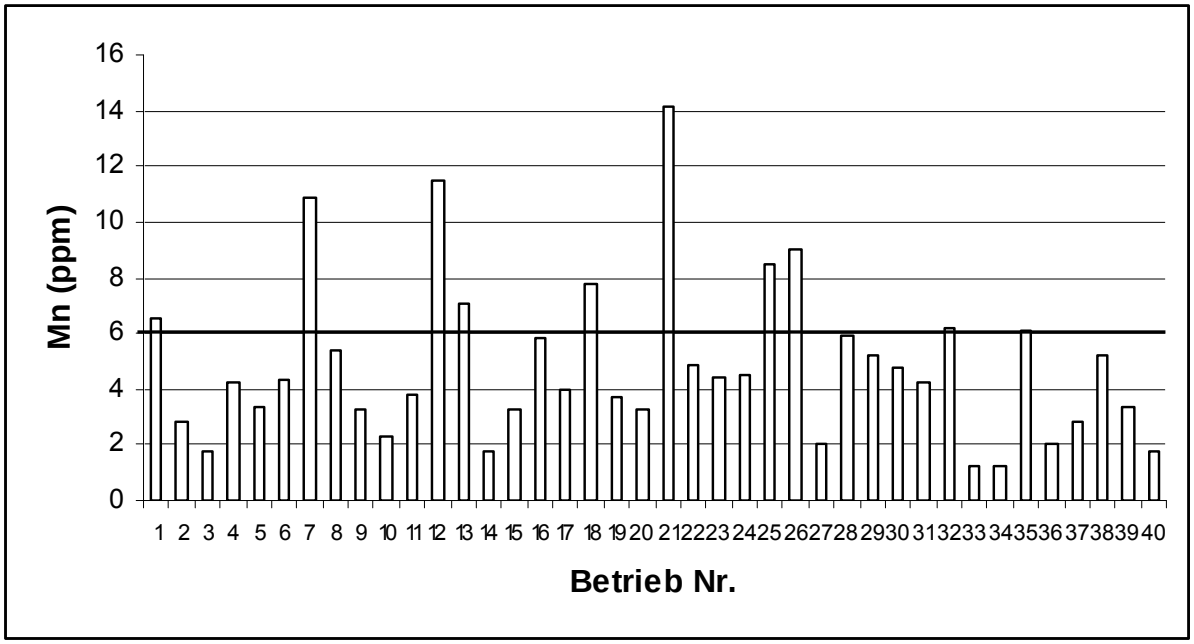


Abbildung 5: Mangangehalte der Haarproben der Trockensteher (horizontale Linie = Grenzwert nach ANKE und RISCH, 1979)

Tabelle 4: Kupfergehalte in der Totalmischration (TMR) der Trockenstehender/Färsen sowie Leistungsparameter der laktierenden Kühe – Betriebe wurden nach 25% besten bzw. schlechtesten Betriebe hinsichtlich der Kupferversorgung sortiert.

	- 25 %	**+- 50 %**	**+ 25 %**
Cu (mg/kg TM)	**6,4**	**9,9**	**19,3**
Empfehlung nach GfE (mg/kg TM)		**10**	
Mittlere Kuhzahl pro Betrieb	86,0	83,0	100,4
Milchleistung, kg/Jahr	8.850	8.628	9.378
Zwischenkalbezeit, Tage	396	402	399
Besamungsindex	2,0	1,9	1,8
Geschlechterverhältnis d. Kälber, ♂ : ♀	1,1:1	1,3:1	1,0:1
Milchzellzahl, Zellen/ml (in Tsd.)	202	170	153
Remontierungsrate, %	33,5	31,5	31,4

Schlussfolgerungen

Die Konzentration von Kupfer, Mangan und Zink in den Totalmischrationen von Trockenstehern/Färsen sowie laktierenden Kühe variiert erheblich zwischen Betrieben. Auf 50% der Betriebe werden Trockensteher und Färsen unzureichend mit Spurenelementen insbesondere Kupfer versorgt. Die Konzentrationen an Kupfer, Mangan und Zink im Deckhaar spiegelt in vorliegender Untersuchung nicht die Gehalte dieser Elemente im Futter wider.

Literatur

ANKE, M. und RISCH, M., 1979. Haaranalyse und Spurenelementstatus. Anke, M., Risch, M. (eds), VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany.

BRANUM, J. C., G. E. CARSTENS, E. H. MCPHAIL, K. W. MCBRIDE and A. B. JOHNSON. 1998. Effects of prenatal dietary copper level on immune function of calves at birth and 56 days of age. Journal of Animal Science suppl. 1 76:43 (abstract).

GfE - Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. 2001. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. DLG Verlag, Frankfurt/Main.

SPIEKERS, H., JANKNECHT, G., LÜPPING W. und POTTHAST, V. 1991. Erhebungen über den Spurenelementgehalte in Grund- und Kraftfutter für Milchrinder. Zeitschrift "Das wirtschaftseigene Futter" Band 37, Heft 1+2, S. 55-67.

VDLUFA, 2003: Methodenbuch VII, 2. Auflage, VDLUFA-Verlag Bonn

Autorenanschrift

Prof. Dr. Georg Dusel
Fachhochschule Bingen, University of Applied Science
FB1- Life Sciences and Engineering – Agrarwirtschaft
Berlinstrasse 109, 55411 Bingen am Rhein
Email: dusel@fh-bingen.de

Wie erreiche ich mühelos meine Produktionsziele? Wie halte ich meine hohen Qualitätsstandards? Und, wie behalte ich bei alledem mein jugendliches Aussehen? Ich könnte dies niemals ohne Zinpro Performance Minerals® schaffen. Sie sind die einzigen organischen Spurenelemente auf dem Markt, bei denen kontinuierliche Wirtschaftlichkeit durch zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen belegt ist. Sie helfen mir, mich vom Rest der Herde abzuheben. Um mehr über Zinpro Performance Minerals® und die neusten Untersuchungen zu erfahren, besuchen Sie www.de.availa4.com

Zinpro Animal Nutrition
Tel: 00 31 485 521 926

AVAILA® 4
ZINPRO
PERFORMANCE MINERALS™

5R
GEWINN • WIRKSAMKEIT • WIEDERHOLBARKEIT
FORSCHUNG • SICHERHEIT

Evaluation of substituting inorganic minerals by a stepdown programme of chelated trace elements in broilers

L. Nollet[1], R. Geers[2], P. Spring[3]

[1] Alltech Netherlands BV, Belgian Office, Belgium
[2] University of Leuven, Lovenjoel, Belgium
[3] Swiss College of Agriculture, Zollikofen, Switzerland

Introduction

It has been shown that eliminating all inorganic trace minerals and replacing them by chelated trace elements at lower inclusion levels can maintain performance (LEESON, 2005). However in these trials the same concentration of each of the chelates were maintained from start until the end; so it is unknown if reducing the concentrations in the last feeding phase and/or increasing the levels in the starter phase have a potential beneficial effect on animal performance.

Objective

The objective of the trial was to evaluate the effect of substituting inorganic minerals in broiler feed with organic trace elements (Bioplex®, Alltech Inc., USA) at lower levels on birds performance. Different from other trials, the chelate levels used were adapted according to the age of the broilers.

Material and Methods

Design

- 960 ROSS 308 broilers were distributed over 5 treatments with 12 repetitions of 16 broilers (6 pens males and 6 pens female per treatment).
- The 5 treatments differed in trace mineral source and level between treatments and feeding phase (Table 1).
- Feeds were wheat-soy based and contained a phytase. A three phase feeding program (day 1-14; 15-28 and 28-42 days) was used.

Measurements

- Technical performance was measured at day 14, 28 and 42 of age
- The data were statistical analysed by ANOVA and LSD-multiple range test.

Table 1: Added trace mineral levels (mg/kg) using inorganic or organic minerals

		A*	B**	C**	D**	E**
Starter (0-14 d)	Cu	**15**	**5**	**5**	**2.5**	**2.5**
	Zn	**75**	**20**	**20**	**10**	**10**
	Mn	**75**	**20**	**20**	**10**	**10**
	Fe	**75**	**5**	**5**	**2.5**	**2.5**
Grower (15-28 d)	Cu	**15**	**2.5**	**1**	**1**	**2.5**
	Zn	**75**	**10**	**5**	**5**	**10**
	Mn	**75**	**10**	**5**	**5**	**10**
	Fe	**75**	**2.5**	**1**	**1**	**2.5**
Finisher (28 - 42 days)	Cu	**15**	**1**	**0.5**	**0.5**	**2.5**
	Zn	**75**	**5**	**2.5**	**2.5**	**10**
	Mn	**75**	**5**	**2.5**	**2.5**	**10**
	Fe	**75**	**1**	**1**	**1**	**2.5**

***Cu as Cu-sulphate, Zn as Zn-oxide, Mn as Mn-oxide and Fe as Fe-sulphate;**

**** Cu, Zn, Mn, Fe as amino acid trace element chelate, hydrate (Bioplex®)**

The treatment A (control feed) contained trace element concentrations based on modern recommendations (LEESON and SUMMERS, 2005). Iron and copper are even recommended at lower (20 mg Iron / kg, 8 mg copper / kg) inclusion levels. The trace mineral sources of the control-feed were inorganic products which are commonly used in the industry. During the three phases their concentrations were not reduced.

The treatments B to E were formulated with organic trace elements at lower inclusion levels than in the inorganic control diet. This reduction takes into account the higher bioavailability of those mineral sources as well as a potential over formulation in standard production systems. Treatment D was supplemented with the lowest trace element concentrations (Cu 17 %; Zn and Mn 13 %, Fe 3 % of the control diet). The contents in treatment D were also reduced in phase II and III in comparison to diet E which was stable during the feeding phases. Treatments B and C contain intermediate levels with reduced contents during the grower and finisher phase.

Results and discussion

No significant differences could be found on body weight, average daily gain and FCR between any of the treatments (Table 2). However, animals fed lower levels of chelates in the starter followed by a quick lowering of the levels in the grower (i.e. treatment D) resulted in a numerically lower general performance.

Table 2: Technical performance as determined on day 42

Treatment	Body weight (g)	ADG (g/a/d)	FCR
A	**2.392**	**55.8**	**1.62**
B	**2.395**	**55.9**	**1.61**
C	**2.400**	**56.0**	**1.61**
D	**2.371**	**55.3**	**1.64**
E	**2.407**	**56.2**	**1.62**

Feeding higher levels in the starter (treatment B and C) or keeping them at the same level (treatment E) on the contrary yielded a numerical increased body weight of 10 – 20 g and an improved FCR (drop) of 0.01 to 0.02. The results are in line with PERIC et al. (2007), which also exchanged the inorganic trace element source by organic chelates and seleno-yeast products and found no negative effects when they reduced the feed trace element content down to 1/3 of the control treatment.

A phase depending decrease in trace element content (B and C) is more economically profitable than the control treatment without an adaptation during the growth. The return on investment is especially in treatment C definitely positive.

Treatment D tends to decrease performance and is in comparison to A less efficient.

Treatment E provokes high surplus costs in using organic trace elements but the higher live weight is able to compensate this and result in a profit (9,44 € = profit (weight)– surplus costs / 1000 broiler; investment = 1,81 € / per 1000 broiler).

Conclusion

It can be concluded from this trial that technical performance can be maintained by total replacement of inorganic minerals by low levels of chelated trace elements.

Treatments B and C indicate phase feeding with adaptation of the trace element content is a strategy that yields performance similar as "high content"-strategy (A). Only the treatment D tends to cause reduced ADG (-0,7 g) and FCR (+ 0,03). Extreme low trace element contents in combination with a phase depending reduction in trace element contents seems to cause deficiencies in comparison to the other treatments.

Strategies to reduce the trace element contents (Cu, Zn, Mn and Fe) in broiler feeding give the opportunity to reduce the environmental pollution (BRUERTON, 2005).

This trial demonstrates that a low trace element supplementation with organic sources does not reduce performance.

The strategy with the organic form in this trial was profitable (positive return on investment). The highest profitability is reached with the treatment E which caused the highest mineral surplus costs but also the best performance.

Further research is required to evaluate feeding programs with chelated minerals (Bioplex®) under commercial conditions with higher stress and microbial challenge levels to the birds.

References

LEESON, 2005 in Redefining Mineral Nutrition, Nottingham University Press

LEESON and SUMMERS, Commercial Poultry Nutrition, 3rd edition, University Books, Guelph

BRUERTON, 2005 in Redefining Mineral Nutrition, Nottingham University Press

PERIC et al., 2007, Effect of Bioplex and Sel-Plex substituting inorganic trace mineral sources on performance of broiler; Archiv GeflK. 71 (3)

Autorenanschrift

Dr. Lode Nollet
Alltech Netherlands B.V.
Office Belgium
Gentsesteenweg 190/1
9800 Deinze
Belgium
lnollet@alltech.com

Producing selenium enriched eggs by different Se-sources in the feed

L. Nollet[1], L. L. M. de Lange[2] and G. Oude Elferink[2]

[1] Alltech Netherlands B.V., Netherland/Belgium
[2] De Heus/Koudijs Feeds, Ede, The Netherlands

Abstract

In this experiment three Se-sources (sodium selenite, sodium selenate and selenium yeast (Sel-Plex® *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060 (Nr. 3b8.10), Alltech Inc., USA)) dosed at levels of 0.45 mg/kg feed were compared for their effect on egg production, Se-content in eggs and Se-utilisation by laying hens during 8 weeks. The eggs were analysed on Se-content after two weeks and after eight weeks of feeding the extra selenium. Throughout the experiment the performance of the laying hens was almost the same per Se-source. Only selenium yeast improved the FCR compared to Se from sodium selenate with 2% ($p=0.02$). After eight weeks of feeding extra Se, selenium yeast increased the Se-content of eggs much more than the other two sources: 0.52 versus 0.33 mg/kg egg ($p<0.01$). With Sel-Plex® it is possible to produce eggs of higher Se content (0.50 mg Se per kg egg content or around 30 µg per egg). Such an egg a day can fulfil half of the daily requirement of selenium for adult men and women.

Introduction

Selenium (Se) is a trace mineral that is essential for a good health, but required only in small amounts (Thomson, 2004). Se is incorporated into proteins to make selenoproteins, which are important antioxidant enzymes. Some of these enzymes as glutathione peroxidase (GSH-Px) are involved in membrane integrity and play a major role in the antioxidant defence in the cell to prevent cellular damage from free radicals. These free radicals can contribute to the development of chronic diseases as cancer in humans. Other selenoproteins help to regulate thyroid function and play a role in the immune system (McKenzie et al, 1998). In poultry Se-deficiency is associated with impaired immunocompetence, reduced egg production and increased embryonic mortality (Combs and Combs, 1984). Enrichment of animal-derived food with selenium via special supplements to animal diets can be an effective way of increasing human selenium status (Surai, 2000).

Objective

The objective of this experiment was to assess the effect of three different Se-sources (sodium selenite, sodium selenate and selenium yeast (Sel-Plex®, *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060 (Nr. 3b8.10), Alltech Inc.) in poultry feed on performance, Se-content in eggs and Se-utilisation.

Materials and methods

- Housing:
  - 1900 Hy-line brown laying hens in the age of 40 – 50 weeks and divided into 12 floor pens (approximately 160 hens per pen).
  - Each pen contained two bell drinkers and a separate chain feeder.
  - Trial was conducted for 8 weeks
- Feed:
  - Feed was mash and supplied daily at a restricted level of about 125 g per hen per day throughout this trial
  - Before the trial a feed was given with only 0.05 ppm Se in the layer feed.
  - During the experiment extra Se was added to the feed as either sodiumselenite, sodiumselenate or selenium yeast at a level of 0.45 mg per kg feed (0.5 ppm in total)
- Measurements:
  - Eggs were collected and weighed daily for the determination of laying-%, egg weight, egg mass and feed conversion rate (FCR).
  - Eggs were collected after two and eight weeks for Se-analysis by breaking and mixing three eggs per pen and analysing the egg content.

Results and discussion

All pens showed a good performance. Feeding Se from selenium yeast improved the FCR compared to selenate, while the hens with selenite in the feed performed intermediate (Table 1).

The Se-content and the Se-utilisation with selenium yeast as Se-source in the feed are much higher than with selenite or selenate as Se-source (Table 2). Also a significant effect of the collection date on the Se-content in eggs occurred ($p<0.01$). Especially for the feed with selenium yeast the increase in Se-content in eggs between two and eight weeks after the start of the experiment was quite high (interaction feed x time: $p<0.01$).

Table 1. Effect of selenium source on performance

	Selenite	**Selenate**	**Sel-Plex®**	**LSD*)**
Feed intake (g/day)	125.6	125.4	124.8	1.6
Eggs/hen (%)	89.5	88.0	89.4	2.2
Egg weight (g/egg)	63.2	63.2	63.3	0.4
Egg mass (g/hen)	56.6	55.7	56.6	1.2
FCR (g/g)	2.222^{ab}	2.253^{b}	2.205^{a}	0.038

***) Least significant difference at a P-value of 0.05**

Table 2. Effect of selenium source on Se-utilisation and Se-level in eggs

	Selenite	**Selenate**	**Sel-Plex®**	**LSD**
Se in feed calculated (mg/kg)	0.50	0.50	0.50	
Se in feed analysed (mg/kg)	0.58	0.42	0.38	0.33
Se in eggs week 2 (mg/kg)	0.25[a]	0.28[b]	0.38[c]	0.02
Se-utilisation week 2 (%)	21.8[a]	24.4[b]	34.3[c]	1.6
Se in eggs week 8 (mg/kg)	0.31[a]	0.34[a]	0.52[b]	0.03
Se-utilisation week 8 (%)	28.0[a]	30.3[a]	49.1[b]	2.8

Comparison of the results of this experiment with other results as described by Paton et al. (2000) shows that the Se-levels in eggs achieved in this experiment with sodiumselenite or -selenite are some higher than calculated with the quadratic polynomials, mentioned in the article of Paton. After feeding eight weeks 0.5 ppm sodiumselenite or -selenate the level in eggs was over 0.3 ppm, while with the polynomial equation a level of 0.2 ppm with 0.5 ppm in the feed is estimated. One explanation for this difference might be that there have not been done many experiments with high inorganic Se-levels above 0.35 ppm in the feed, and that extrapolation gives too low estimates of the Se-level in eggs at high Se-levels in feed. Another explanation might be that in many trials the period of feeding extra selenium was too short for reaching the maximum level. With selenium yeast however the Se-levels in eggs analysed in this trial correspond very well with the value predicted by the equation of Paton (Fig. 1).

Conclusions

The Se-source hardly affected the performance. Only the FCR was improved slightly by feeding Se from selenium yeast compared to Se from sodium selenate with 2%.

Feeding sodium selenate instead of sodium selenite increased the Se-level in eggs slightly, while feeding selenium yeast raised the Se-level in eggs significantly compared to selenite and selenate.

It takes more than two weeks feeding extra Se to reach a maximum Se-level in eggs.

After eight weeks of feeding extra Se the utilisation of Se from selenium yeast was 20% higher than with the other two Se sources.

The quadratic polynomial equation, calculated by Paton et al. (2000) gives for sodium selenite and –selenate a too low estimation of the Se-content in eggs at high Se-levels of 0.5 ppm in the feed.

With selenium yeast it is possible to produce Se-enriched eggs with 0.50 mg Se per kg egg content, or around 30 μg per egg.

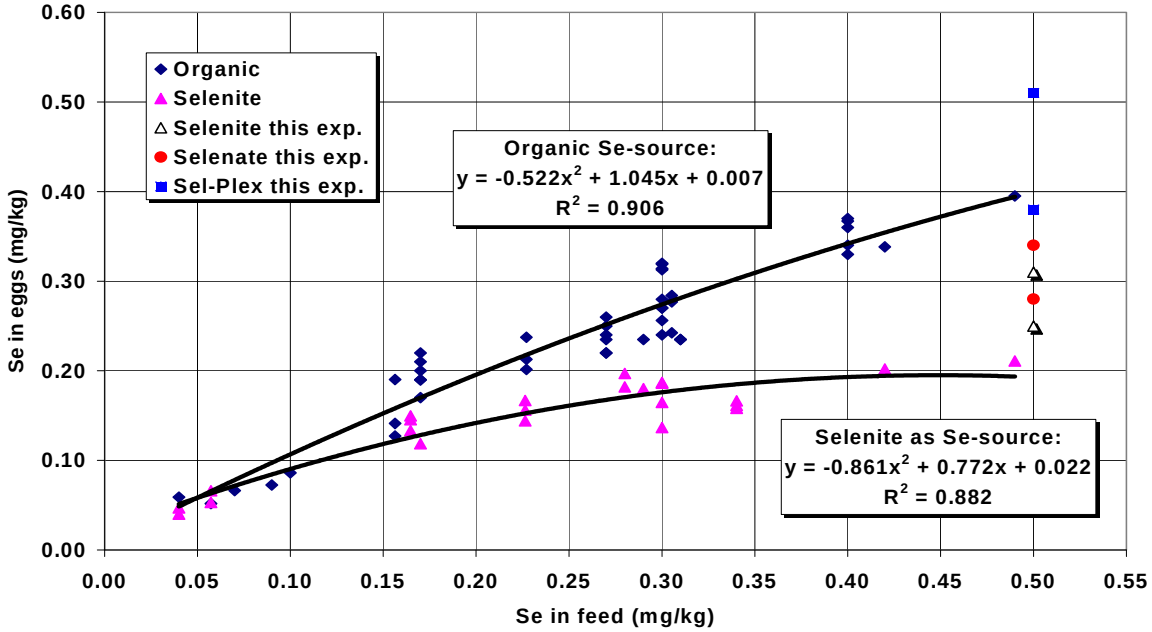


Figure 1. Relation between the Se-content in feed and eggs (Paton et al, 2000; this experiment)

References

COMBS, G.F. and COMBS, S.B. (1984) The nutritional biochemistry of selenium. *Annual Review of Nutrition* 4: 257-280

MCKENZIE, R.C., RAFFERTY, T.S. and BECKETT, G.J. (1998) Selenium an essential element for immune function. *Immunology Today* 19: 342-345.

PATON, N.D., CANTOR, A. H., PESCATORE, A. J., FORD, M.J. and SMITH, C.A. (2000) Effect of dietary selenium source and level of inclusion on selenium content of incubated eggs. *Poultry Science* 79 (Suppl) 40

SURAI, P.F. (2000) Organic selenium : benefits to animals and humans, a biochemist's view. In *Biotechnology in the Feed industry.* Proceedings of Alltech's 16th Annual Symposium (Lyons T.P. and Jacques K.A., eds). Nottingham University Press, Nottingham, UK. 205-260.

THOMSON, C.D. (2004) Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *European Journal of Clinical Nutrition* 58: 391-402.

Autorenanschrift

Dr. Lode Nollet
Alltech Netherlands B.V.
Office Belgium
Gentsesteenweg 190/1
9800 Deinze
Belgium
lnollet@alltech.com

Phosphorus disappearance from selected feedstuffs determined by in sacco technique

Z. Čerešňáková, M. Chrenková, P. Fľak, M. Poláčiková

Slovak Agricultural Research Centre, Department of Nutrition, Nitra, Slovak Republic

Introduction

Animal nutrition has to adapt to new rules, particularly the control of animal waste production not only nitrogen but also phosphorus. Sixty percent of phosphorus waste of animal origin come from ruminants (Tamminga, 1992). To decrease this waste, it is necessary to better know dietary phosphorus (P) solubilisation and availability. Rumen P solubility was not uniform amongst the feedstuffs, very high was from cereals. Alfalfa P release kinetics showed high bacterial P contamination (Bravo et al., 2000). It has been considered that phytate is easily degraded in the rumen and availability of phytate P is high in ruminants (Park et al., 1999). Heating treatment of oilseeds meals suppressed ruminal degradation of phytate (Matsui, 2002). The aim of this experiment was to estimate disappearance of P from forages and raw or by heating treated cereal and legumes by in sacco technique.

Material and Methods

To study the release of phosphorus (P) we used feedstuffs: lucerne hay (LH), orchard grass hybrid Rela (GR), raw and flaked pea, raw and extruded soy bean, white lupine and triticale.

For in sacco method we used 3 young bulls (average live weight 350 kg) with large rumen cannula (inner diameter 10 cm). The animals were fed a ration consisting of lucerne hay, maize silage, cereal meal and mineral and vitamine feed additive. Water was available ad libitum.

The feedstuffs were ground to pass a 3 mm sieve and weighed (approx. 2.5 g dry matter) into bags made of Uhelon 130T (HEDVA, Moravska Třebova, Czech Republic) with pore size 47 μm. We used three bags for each forage, incubation time and animal. The bags with feedstuffs were incubated in the rumen. The 0-h time bags were only washed in water and were not incubated in the rumen.

For mineral analysis (STN 46 9072) samples of feedstuffs and in sacco residues were ashed at 550 °C and the ash was disolved in 10 ml of HCl (1:3). Content of phosphorus before and after incubations was determined colorimetrically by the vanado- molybdate method.

The obtained data of observed losses of P were evaluated by calculation of basic variational statistical characteristics of observations of followed traits and by two way analysis of variance with Tukey´s test of nonaditivity of group(forage) x time of incubation

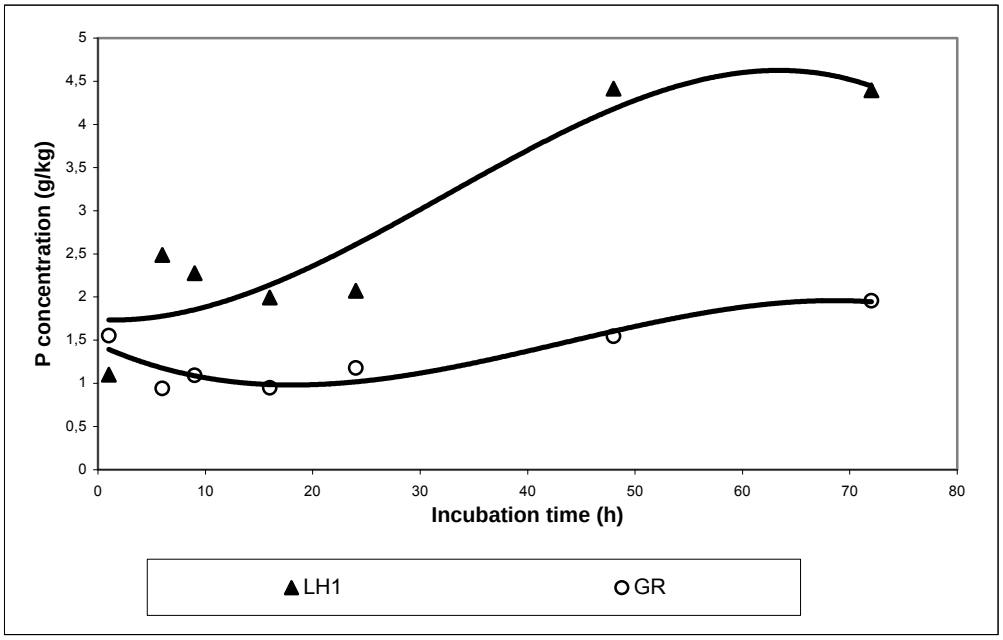
For the reason that all Tukey´s tests of non aditivity were significant or highly significant, the regressions of phosphorus release over time were analysed for each feeds independently.

Results and discussion

Rumen phosphorus release measured by in sacco technique is an interesting way to describe phosphorus quality of feeds in diets of ruminants. Available phosphorus is the proportion of dietary phoshorus that is solubilised during digestion of feeds. Solubilization and release of phosphorus from the structure of forage is very important precondition for its utilization in animals (Sauvant et al.,1999). Forages are characterized by different cell wall content and NDF degradability (Table 1). Disappearance of some elements is closely related to the NDF degradation in the rumen of cattle (Čerešňáková et al., 2005). However we did not find significant correlation between the NDF degradability and phosporus disappearance (r = 0.2655) during incubation of these forages in the rumen.

Table 1. Influence of incubation time in the rumen on phosphorus concentration ($g \cdot kg^{-1}$ DM) in undegraded residues of forages and NDF content in the forages ($g \cdot kg^{-1}$ DM) and NDF disappearance (%)

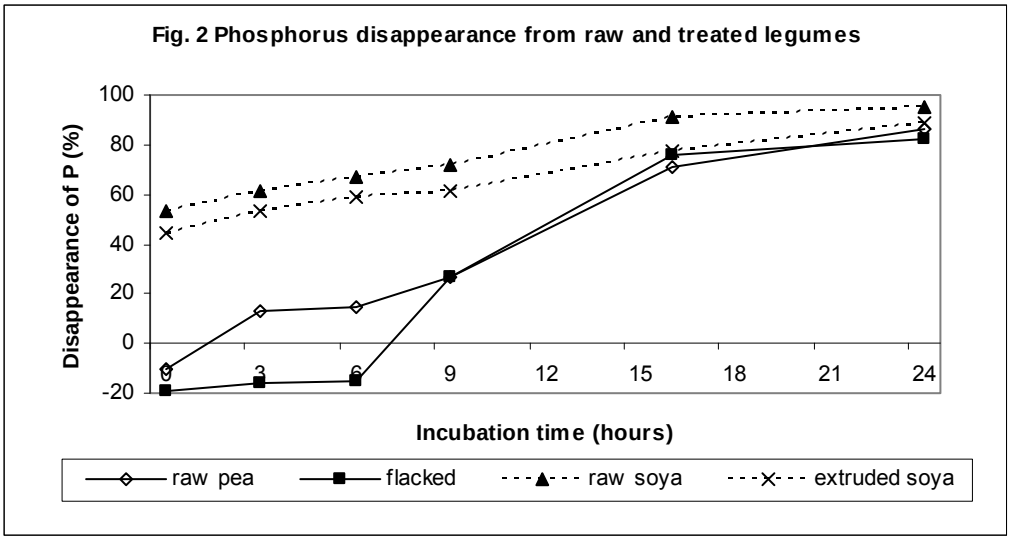
Forages	NDF content	P before washing	P after	Incubation times (h)					
				6h	9h	16h	24h	48h	72h
$LH_1 - P_{conc}$		2.283	1.099	2.486	2.275	1.995	2.072	4.416	4.394
- NDF_{disepp}	351.7		17.26	28.68	33.54	39.62	44.28	52.62	55.47
GR - P_{conc}		2.677	1.552	0.942	1.093	0.947	1.177	1.544	1.957
- NDF_{disepp}	597.7		1.9	12.4	21.3	38.7	50.0	66.2	69.3



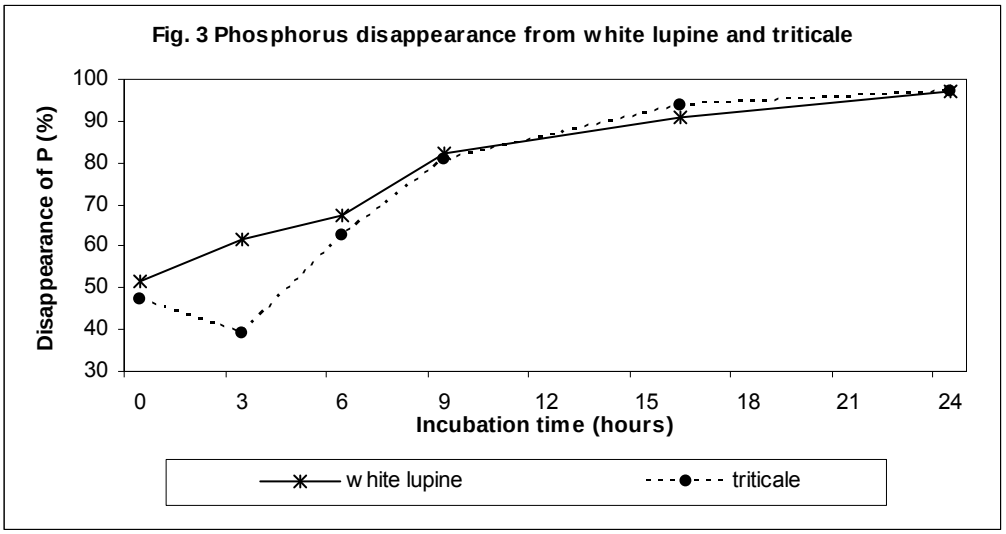
The forages were different in NDF content (351.7 and/or 597.7 g.kg^{-1}DM). There were also differences ($P<0.01$) in phosphorus release in the rumen. A greater percentage of P was solubilised by washing from LH (57.5 %) followed with GR (74.9 %). The time of incubation affected phosphorus release highly significantly ($P<0.01$).). Kinetics of releasing of P are presented by phases of increasing and decreasing of P concentration in undegraded residues (Fig. 1).

On one side rumen is declared as the major site for phosphorus release from forages (Emanuele et al., 1991), on the other side concentration of phosphorus was increased during prolonged incubation of forages in the rumen (Flachowsky et al., 1994; Bravo et al., 2000). It is explained by many authors (Emanuel and Staples, 1990; Flachowsky and Grün, 1992; Bravo et al., 2000) with adhering of microbes (that are rich in P content) on the cell walls of undegraded feeds residues.

Approximately 65 -70 % of total P in cereal grains is in the form of phytate P. Protein sources that are fed to cattle also contain a significant proportion of phytate P (Guyton, 2002). Ruminants are able to utilize the phytate P in feedstuffs because of the microbial enzyme phytase. Rumen microorganisms are able to hydrolyze phytate P rapidly and completely. Clark et al. (1986) found that 98 % of phytate P is hydrolysed into inorganic P. Heat treatment like the formaldehyde treatment have been shown to depress phytic P degradation in the rumen. The results of our experiment confirmed the previously findings (Bravo et al. 2003; Matsui, 2002).



The both figures (2 and 3) show that phosphorus release in the rumen is highly different for feedstuffs like legumes and triticale. Soya bean phosphorus was widely solubilised in the rumen, reaching 95.3 % after 24 h incubation. Heat treatment decreased P disappearance from soy bean and also from pea. Release kinetic from raw and flacked pea was very different than raw and extruded soy bean. The differences were significant ($P\leq0.01$). Heat treatment depressed phytic P degradation also in the oilseed meals (Matsui, 2002).



Rumen P release kinetic from triticale is similar than from other cereals (wheat and barley) published by Bravo et al. (2000). Disappearance of P after 16 hours incubation achieved nearly maximum.

Table 2. Parameters of phosphorus degradation kinetics for raw and treated legumes and triticale

Parameters	pea		soy		white lupine	triticale
	raw	flacked	raw	extruded	raw	raw
$a_{soluble\ fraction}$	26.4	32.5	53.0	44.2	51.7	47.5
$B_{insoluble,degradable\ fraction}$	68.5	65.0	47.0	55.8	48.3	51.2
$C_{degradation\ rate}$	0.218	0.136	0.050	0.007	0.098	0.189
$Ed_{effective\ dagradability}$	70.8	77.3	80.9	72.6	81.5	78.0

Effect of treatment was not the same on the degradation parameters of pea and/or soy (Tab. 2) . The degradation rate was the highest for raw pea and the lowest for extruded soy. Heat treating changed the ratio of soluble fraction to insoluble but degradable fraction.

Our results show that heat treatment can depressed not only crude protein degradability but also disappearance of phosphorus from legume seeds that are used for feeding ruminants. For absorption or utilization of phosphorus by ruminants is very important to hydrolyze organically bound P (phytate P) and made the P available for absorption in the small intestine.

The knowledges of P release in the rumen can lead to decrease wastes and pollution by the ruminants.

References

Bravo D., Meschy F., Bogaert C., Sauvant D. (2000): Ruminal phosphorus availability from several feedstuffs measured by nylon bag technique. Reprod. Nutr. Dev., 40, 149-162.

Bravo D., Sauvant D., Bogaert C., Meschy F. (2003): Quantitative aspects of phosphorus absorption in ruminants, Reprod. Nutr. Dev., 43, 271-284.

Clark, W.D., Jr., J.E. Wohlt, R.L. Gilbreath, and P.K. Zajac. (1986): Phytate phosphorus intake and disappearance in the gastrointestinal tract of high producing dairy cows. J. Dairy Sci. 69, 3151-3155.

Čerešňáková Z., Fľak P., Poláčiková M. Chrenková M. (2005):In sacco NDF degradability and minerals release from selected forages in the rumen. Czech. J. Anim. Sci. 50, 320-328.

Emanuele S. M., Staples C. R. (1990): Ruminal release of minerals from six forage species. J. Anim. Sci.. 68, 2052-2060.

Emanuele S.M., Staples C.R., Wilcox C. J. (1991): Extent and site of mineral release from six forage species incubated in mobile dacron bags. J. Anim. Sci., 69, 801-810.

Flachowsky G., Grün M. (1992): Influence of type of diet and incubation time on major elements release in sacco from Italian ryegrass, untreated and ammonia-treated wheat straw. Anim. Feed Sci. Technol., 36, 239-254.

Flachowsky G., Grün M., Polzin S., Kronemann H. (1994): In sacco dry matter degradability and Ca, Mg, and P disappearance from italian ryegrass, alfalfa hay and wheat straw in sheep and goats. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr., 71, 57-64.

Guiton A. D. (2002): Starch digestion and phosphorus excretion in lactating dairy cows. Thesis for the degree of Master of Science, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, 2002

Matsui T. (2002): Relationship between mineral availability and dietary phytate in animals. Anim. Sci. J., 73, 21-28.

Park W.Y., Matsui T., Konishi C., Kim S.W. Yano F., Yano H. (1999): Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soybean meal and rapeseed meal. Br. J. Nutr. 81, 467-471.

Sauvant D., Meschy F., Mertens D.R. (1999): Empirical modelling of buffer recycling in cattle. J. Dairy Sci., 82, Supp. 1, 39.

Tamminga S. (1992): Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control, J. Dairy Sci. 75, 345-357.

Corresponding author

Dr. Zuzana Čerešňáková,
SARC Nitra, Research Institute for Animal Production,
Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovak Republic,
Phone: +421 376546 264,
E-mail: ceresnakova@scpv.sk

Effekte unterschiedlicher Dosierungen von Kaliumjodid und Kaliumjodat in der Mastschweinefütterung

V. Wagner[1], W. Windisch[1], A. Busch-Petersen[1], S. Swoboda[2], T. Ettle[1]

[1]Universität für Bodenkultur Wien, Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
[2]Universität für Bodenkultur Wien, Institut für Bodenforschung

Einleitung

Das natürlich vorkommende Element Jod [I] ist für Menschen und Tiere essentiell. Bei unzureichender Jodaufnahme kann es zu zahlreichen Mangelerscheinungen wie Kropfbildung, geistiger Behinderung, oder verminderter Fruchtbarkeit kommen. Da Jodmangel weltweit noch immer sehr verbreitet ist, gab und gibt es zahlreiche Bemühungen, Futtermittel mit Jod stark anzureichern, um neben der Sicherstellung der Tiergesundheit auch den Jodgehalt in den erzeugten Lebensmitteln tierischer Herkunft zu erhöhen.

Da sich jedoch vor allem in Milch und Eiern auf Grund dieser Anreicherung hohe Jodgehalte wiederfinden und bei einer zu hohen alimentären Zufuhr die Möglichkeit einer Jodbelastung diskutiert wird (FLACHOWSKY et al. 2006), wurden die maximal zulässigen Höchstgehalte von 10 mg Jod/kg Futter, sowohl bei Legehennen als auch Milchkühen, auf 5 mg Jod/kg Futter herabgesetzt (EU 2005).

Bei Mastschweinen zeigen verschiedene Studien (z.B. HE et al. 2002, SCHÖNE et al. 2006) deutliche Unterschiede bezüglich der Anreicherung von Jod in den verschiedenen Geweben.

Daher wurde in der vorliegenden Studie der Einfluss der Höhe der Jodversorgung auf die Jodkonzentration im Muskel- und Lebergewebe beim Mastschwein untersucht, wobei gleichzeitig die Jodquelle (Kaliumjodid [KI] vs. Kaliumjodat [KIO_3]) im Futter variiert wurden. Weiterhin wurde der Einfluss von Joddosis und Jodquelle auf die Mast- und Schlachtleistungsparameter näher betrachtet.

Material und Methoden

Die Studie wurde an der Österreichischen Schweineprüfanstalt in Streitdorf mit 60 weiblichen Mastschweinen durchgeführt, die in 12 Gruppenboxen zu je 10 Tieren gehalten wurden. Die Einstallung der Schweine (Dreirassenkreuzung, OEHYB) erfolgte bei einem mittleren Gewicht von 35 kg. Die Tiere wurden unter Berücksichtigung von Anfangsgewicht und Wurf einer der 4 folgenden Futtergruppen (Behandlungen) zugeteilt (Tabelle 1):

Tabelle 1: Behandlungen entsprechend der Jodquelle und Höhe der Jodzulage

Behandlung	Jodquelle	Jodzulage (µg/kg)
1	Kaliumjodid	400
2	Kaliumjodat	400
3	Kaliumjodid	4000
4	Kaliumjodat	4000

Die Tiere wurden zweiphasig gefüttert und erhielten bis zu einem Gewicht von 70 kg Lebendmasse ein Anfangsmastfutter und ein Endmastfutter bis zu einem Gewicht von 112 kg Lebendmasse.

Die Basisration, die entsprechend den obigen Angaben behandlungsindividuell mit 400 bzw. 4000 µg Jod in Form von Kaliumjodid bzw. Kaliumjodat supplementiert wurde, bestand aus den Hauptkomponenten Weizen, Gerste und Futtererbsen. Die analysierten Jodgehalte im Futter für die Anfangsmast lagen vermutlich auf Grund eines Mischfehlers 2000 µg/kg über den geplanten Jodzulagen. In der Endmast konnten die geplanten Jodgehalte analytisch bestätigt werden. Das pelletierte Futter und das Wasser wurde den Tieren *ad libitum* verabreicht. Die Futteraufnahme wurde über ein Transpondersystem täglich ermittelt, während die individuelle Lebendmasse einmal wöchentlich erfasst wurde.

Bei Erreichen eines individuellen Lebendgewichtes von 112 kg wurden die Tiere am betriebseigenen Schlachthof unter standardisierten Bedingungen geschlachtet und die Schlachtleistungsparameter nach den Methoden der Österreichischen Schweineprüfanstalt erhoben.

Im Zuge der Schlachtung wurden zudem Gewebeproben von der Leber und Muskeln entnommen.

Leber- und Muskelproben wurden nach der Entnahme gefriergetrocknet und homogenisiert. Danach wurde ein alkalischer Aufschluss mit TMAH (Tetramethylammoniumhydroxid) vorgenommen und mittels ICP-MS die Jodkonzentration in den Geweben bestimmt.

Die Daten wurden einer Varianzanalyse (GLM-procedure of SAS, SAS Inst., Inc., Cary, NC) unterzogen. Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten ($p \leq 0{,}05$; Student-Newman-Keuls-Test) sind mit Hochbuchstaben gekennzeichnet. Aufgrund krankheitsbedingter Minderleistungen wurden 5 Tiere (2 Tiere aus der Behandlungsgruppe 1, 1 Tier aus Behandlungsgruppe 2 und 2 Tiere aus Behandlungsgruppe 3) von der statistischen Auswertung ausgeschlossen.

Ergebnisse

Die Mastdauer variierte im Vergleich der vier Behandlungsvarianten zwischen 87,2 und 92,3 Tagen (Tabelle 2). Bedingt durch nominale Unterschiede im täglichen Zuwachs und der Futteraufnahme zwischen den 4 Behandlungen, ergab sich für die Behandlungen 3 und 4 ein numerisch höherer Futteraufwand, als für die Behandlungen 1 und 2.

Tabelle 2: Einfluss der Behandlung auf die Mast- und Schlachtleistungskriterien

	Behandlung				
Jodquelle	**KI**	**KIO_3**	**KI**	**KIO_3**	**S.E.**
Joddosis	**400**	**400**	**4000**	**4000**	
Versuchgruppe	**1**	**2**	**3**	**4**	
Mastdauer (d)	87,2	89,3	92,3	91,7	11,3
Anfangsgewicht (kg)	36,1	36,0	35,0	35,2	5,1
Endgewicht (kg)	112,4	112,8	113,3	111,2	4,5
Tageszunahmen (g)	885	868	862	838	101
Futteraufnahme (kg T/d)	2,34	2,25	2,37	2,32	0,23
Futteraufwand (g /g)	2,65	2,60	2,77	2,78	0,2
Fettfleischverhältnis (1:...)	5,9	5,8	5,5	6,0	1,3
Ausschlachtung (%)	78,8	79,0	78,7	79,2	1,4
Rückenspeckdicke (mm)	21,3	22,5	22,9	21,3	2,5
Magerfleischanteil (%)	59	58	58	59	2,3
Intramuskulärer Fettgehalt (%)	1,12	1,26	1,44	1,33	0,31
Dripverluste (%)	6,61	6,71	5,58	5,91	2,6
Fleischhelligkeit (U)	69,0	64,4	68,4	69,4	5,7

Die Ausschlachtung (im Durchschnitt 79 %) und der Magerfleischanteil (im Durchschnitt 58 %) lagen beide im Normalbereich und zeigten keine behandlungsbedingten Variationen auf. Genauso verhielt es sich mit den Merkmalen der Rückenspeckdicke, des Fleischfettverhältnisses, der Dripverluste und der Fleischhelligkeit. Auch hier konnten keine Unterschiede bezüglich der Behandlungen festgestellt werden. Der intramuskuläre Fettgehalt (IMF) war jedoch in der Behandlungsgruppe 3 (4000 µg I/kg, KI) gegenüber der Behandlungsgruppe 1 (400 µg I/kg, KI) tendenziell ($p=0,07$) erhöht.

Tabelle 3: Einfluss der Höhe der Jodzulage auf Mast- und Schlachtleistungskriterien

	Dosis		
	1	**2**	**S.E.**
Jod (µg/kg)	**400**	**4000**	
Mastdauer (d)	88,3	91,9	11,2
Anfangsgewicht (kg)	36,0	35,1	5,05
Endgewicht (kg)	112,6	112,2	4,54
Tageszunahmen (g)	877	849	101
Futteraufnahme (kg T/d)	2,29	2,34	0,23
Futteraufwand (g /g)	2,62[b]	2,77[a]	0,20
Fettfleischverhältnis (1:...)	5,87	5,78	1,28
Ausschlachtung (%)	78,9	79,0	1,42
Rückenspeckdicke (mm)	22,0	22,1	2,47
Magerfleischanteil (%)	59	58	2,26
Intramuskulärer Fettgehalt (%)	1,19[b]	1,38[a]	0,31
Dripverluste (%)	6,66	5,76	2,57
Fleischhelligkeit (U)	66,6	68,9	5,70

Tabelle 3 zeigt die mittleren Leistungsparameter im Hinblick auf die Höhe der Joddosierungen (jeweils im Mittel über die beiden Jodquellen). Es zeigten sich keine signifikanten Effekte auf die täglichen Zunahmen und die Futteraufnahme (Tabelle 3). Der Futteraufwand wurde durch Zulage von 4000 µg I/kg im Vergleich zur Zulage von 400 µg I/kg jedoch signifikant ($p<0,05$) verschlechtert.

Bei den Schlachtleistungsparametern konnten mit Ausnahme des IMF keine Unterschiede in Abhängigkeit der Jodhöhe festgestellt werden (Tabelle 3). Der IMF steigt mit der Höhe der Jodzulage signifikant ($p<0,05$) an.

In Tabelle 4 ist der Einfluss der Jodquelle auf die Mast- und Schlachtleistungskriterien dargestellt. Weder bei den Mastleistungsparametern noch bei den Schlachtleistungsparametern konnten Unterschiede festgestellt werden.

Vergleicht man die beiden Zulagehöhen (400 und 4000 µg I/kg), so lassen sich dosisabhängige Unterschiede in der Jodkonzentration sowohl im Muskel als auch in der Leber beobachten (Abbildung 1). Die Jodkonzentrationen im Muskel- und Lebergewebe waren im Mittel der Behandlungen mit 4000 µg I/kg Jodzulage signifikant ($p<0,05$) höher, als im Mittel der Behandlungen mit 400 µg I/kg Jodzulage (25 vs. 46 ng/g; 118 vs. 331 ng/g).

Die Jodquelle zeigte hingegen nur einen geringfügigen Einfluss auf die Akkumulationen von Jod in den Geweben.

Tabelle 4: Einfluss der Quelle der Jodzulage auf Mast & Schlachtleistungskriterien

	Quelle		
	Kaliumjodid	**Kaliumjodat**	**S.E.**
Mastdauer (d)	89,8	90,5	11,2
Anfangsgewicht (kg)	35,5	35,6	5,05
Endgewicht (kg)	112,9	112,0	4,54
Tageszunahmen (g)	873	853	101
Futteraufnahme (kg T/d)	2,35	2,29	0,23
Futteraufwand (g /g)	2,71	2,69	0,20
Fettfleischverhältnis (1:...)	5,73	5,91	1,29
Ausschlachtung (%)	78,8	79,1	1,42
Rückenspeckdicke (mm)	22,1	21,9	2,48
Magerfleischanteil (%)	59	58	2,26
Intramuskulärer Fettgehalt (%)	1,28	1,29	0,31
Dripverluste (%)	6,09	6,30	2,57
Fleischhelligkeit (U)	68,7	67,0	5,70

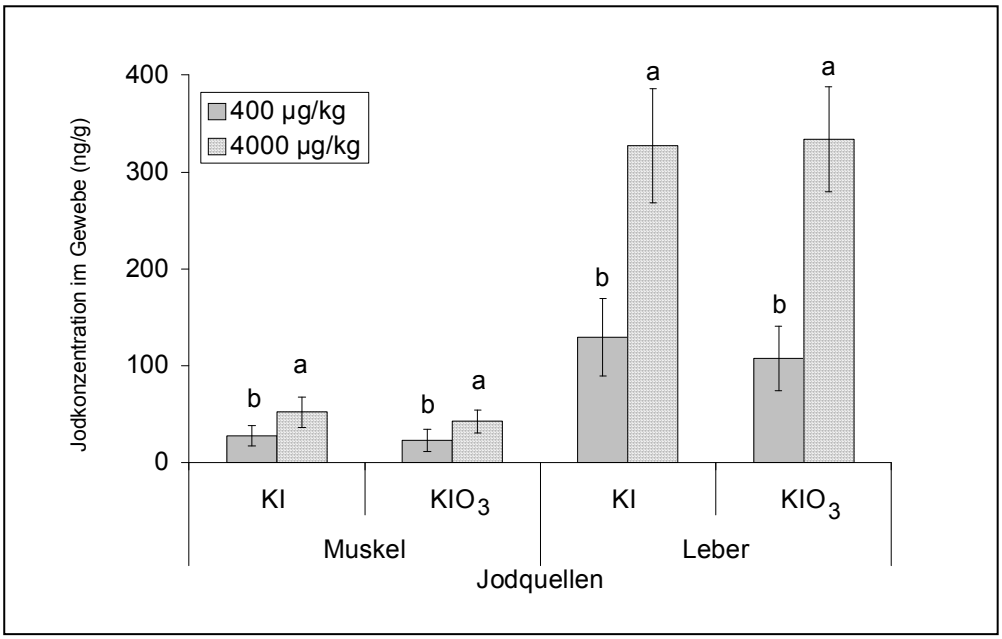


Abbildung 1: Jodkonzentration nach Verfütterung verschiedener Jodquellen & Jodzulagen in Muskel und Lebergewebe in Abhängigkeit der Jodquelle und der Höhe der Jodzulage

Diskussion

In der vorliegenden Studie sollte der Effekt von Kaliumjodid und Kaliumjodat in 2 verschiedenen Dosierungen auf die Mast- und Schlachtleistungsparameter getestet werden. Zudem wurde die Jodkonzentration im Muskel- und Lebergewebe untersucht.

Vorliegende Ergebnisse weisen darauf hin, dass schon eine relativ geringe Jodzulage von 4000 µg I/kg im Vergleich zu 400 µg I/kg zu einem negativen Effekt bezüglich des Futteraufwandes führen kann. In älteren Studien, wie etwa von NEWTON und CLAWSON (1974) konnten bei allerdings wesentlich höheren Jodzulagen (800 – 1600 mg/kg) ebenfalls signifikant negative Effekte auf den Futteraufwand und die tägliche Futteraufnahme sowie die täglichen Zunahmen festgestellt werden. In einer Studie von BERK et al. (2006) konnten bei ähnlicher Joddosierung wie in vorliegender Untersuchung hingegen keine negativen Effekte auf den Futteraufwand festgestellt werden.

Der Anstieg des intramuskulären Fettgehalts bei hohen Jodgehalten des Futters dürfte mit der beeinträchtigten Futterverwertung in Zusammenhang stehen und einen allgemein erhöhten Fettansatz und/oder eine verminderten Proteinretention der Tiere widerspiegeln.

Zwar liegen die Jodgehalte im Muskel in vorliegender Untersuchung höher als in vergleichbaren Studien von FRANKE et al. (2006) und SCHÖNE et al. (2006), dennoch bestätigen vorliegende Ergebnisse Angaben der EFSA (2005). Diese besagen, dass Schweinefleisch im Vergleich zu anderen Nahrungsmitteln, wie z.B. Algen und Meeresfischen aber auch Milch und Eiern, aufgrund des relativ niedrigen Jodgehalts und dessen allenfalls schwachen Reaktion auf eine hohe Jodzulage nur einen geringfügigen Beitrag zur Gesamtjodversorgung beim Menschen leistet.

Schlussfolgerung

Ein mit Kaliumjodid bzw. Kaliumjodat angereichertes Futter scheint ab einer gewissen Zulagehöhe einen negativen Einfluss auf den Futteraufwand beim Mastschwein zu haben. Obwohl die Jodgehalte im Vormastfutter mit bis zu 6000 µg/kg Futter höher als die geplanten Werte lagen, zeigt sich doch, dass diese negativen Effekte schon bei Jodkonzentrationen auftreten, die deutlich unterhalb der erlaubten Maximal-Jodkonzentration für Schweinemastfutter (10.000 µg/kg) liegen.

Zudem kommt es zu Anreicherungen von Jod in Muskel- und Lebergewebe in Abhängigkeit der Zulagehöhe, wobei die Jodquelle nur eine geringfügige Rolle spielt.

Auf die meisten Schlachtleistungsparameter scheint Jod nur einen geringfügigen Einfluss zu haben, lediglich der intramuskuläre Fettgehalt wurde bei Jodkonzentrationen im Futter von 4000 µg/kg im Vergleich zu 400 µg/kg deutlich erhöht.

Wir danken dem VIRIS Laboratory - Center for Geosciences UZA II für die Unterstützung dieser Studie.

Literatur

EFSA (2005): Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products of Substances used in Animal Feed on the request from the Comission on the use of iodine in feedingstuffs. The EFSA Journal 168: 1-42.

EU (2005): Verordnung (EG) Nr. 1459/2005 der Kommission zur Änderung der Bedingungen für Zulassung der Spurenelemente. Amtsblatt der Europäischen Union, L 233/8-10 vom 09.09.2005.

Flachowsky, G., Schöne, F., Jahreis, G. (2006): Zur Jodanreicherung in Lebensmitteln tierischer Herkunft. Ernährungs-Umschau. 53: 17-21.

Franke, K., Berk, A., Leiterer, M., Schöne, F. (2006): Einfluss einer gestaffelten Jodversorgung auf den Jodstatus von Schweinen. Proc. 9. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, 28.-30.11.2006, Halle, 173-175.

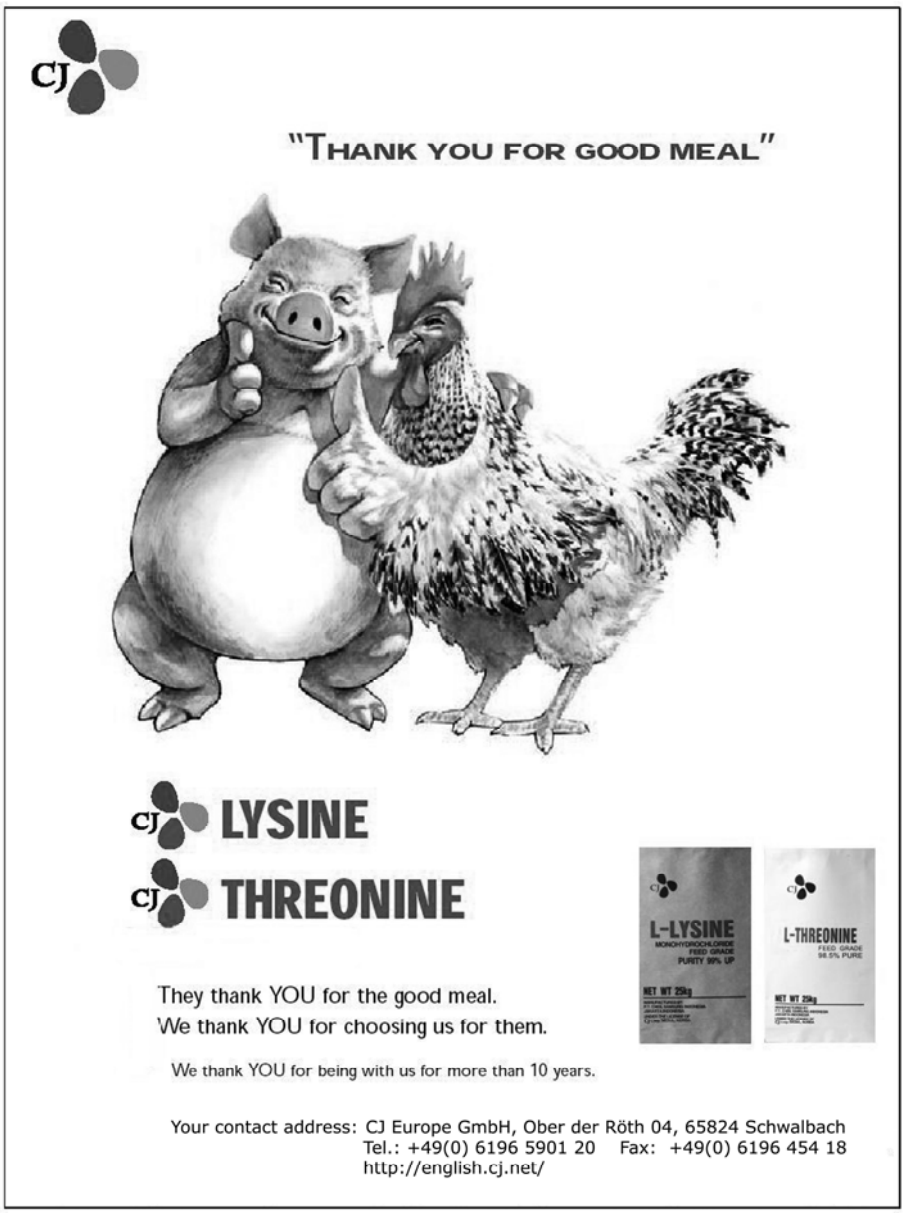
He, M.L., Hollwich, W., Rambeck, W.A. (2002): Supplementation of algae to the diet of pigs: a new possibility to improve the iodine content in the meat. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 86, 97-104.

Newton, G.L. und Clawson, A.J. (1974): Iodine Toxicity: Physiological Effects of elevated Dietary Iodine on Pigs. Journal of Animal Science 39:879-884.

Schöne, F., Zimmermann, Chr., Quanz, G., Richter, G., Leiterer, M. (2006): high dietary iodine increases thyroid iodine stores and iodine concentration in blood serum but has little effect on muscle iodine content in pigs. Meat Science 72: 365-372.

Autorenanschrift

Mag. Viktoria Wagner
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
Abteilung:Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Straße 33, A-1180 Wien
e-Mail: viktoria.wagner@boku.ac.at


"THANK YOU FOR GOOD MEAL"
LYSINE
THREONINE
L-LYSINE
L-THREONINE
They thank YOU for the good meal.
We thank YOU for choosing us for them.
We thank YOU for being with us for more than 10 years.
Your contact address: CJ Europe GmbH, Ober der Röth 04, 65824 Schwalbach
Tel.: +49(0) 6196 5901 20 Fax: +49(0) 6196 454 18
http://english.cj.net/

Nutritional value of raw and heat treated pea (*Pisum sativum*) in balance and growth experiment with rats

J. Sudzinová[1], M. Chrenková[1], J. Kováčik[2]

[1] Slovak Agricultural Research Centre, Department of Nutrition, Nitra, Slovak republic
[2] Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovak republic

Introduction

Peas are protein rich crops and play an interesting role in animal feeding. Peas are an energy- and protein- dense feedstuff that can compete with many other feeds for selected nutrients. Energy content is comparative with barley and corn (Andreson, 1998). The amino acid composition is characterized by a high lysine and arginine content and low methionine, cystine and tryptophan content (Leterme et al., 1992). Peas, like other legume seeds, are characterized by their highly degradable protein and slowly degradable starch (Chrenková et al., 1995, Chrenková and Čerešňáková, 2005). Therefore, the value of peas differs depending on diet formulation, age of animals and processing (Marquardt and Bell, 1988).

Peas contain several natural constituents which can interfere with nutrient utilization or disrupt the physiological processes of animals (O'Doherty and Keady, 2000). Therefore heat processing has been used for years to improve the nutritive value of raw materials. The main role of processing is to improve flavour, texture and other functional properties and deactivate antinutritional factors (Jaikaran et al., 2001; Sarwar and Sepher, 2003).

The objective of our work was to study the effect of extrusion and flaking treatment on nutritional properties, growth parameters and digestibility of crude protein in balance and growth experiment in rats.

Material and Methods

Biological method

Subjects of test were two varieties of peas in native form and heat treated form. We studied digestibility of crude protein, N balance, biological value of protein (BV), protein efficiency ratio (PER) and feed consumption per 1 g of gain using Wistar rats with an initial weight of approximately 70 g. The animals were kept individually in balance cages with nipple watering device and with free access to diets and water. Body weight and feed intake were determined at weekly intervals throughout experiment. The whole experiment (28d) was divided into an adaptive period (4 d), preliminary period (3 d) and a feeding and balance period (21 d). Balance period lasted from day 8 to 14 of this period. Urine and feces were collected quantitatively daily during the balance period. Urine was collected into 5 % v/v sulfuric acid. Daily feces samples were frozen. Afterwards total amount of collected feces and urine were homogenized and analyzed for nitrogen content. The experiment was carried out according to the method of Eggum (1973) and Heger et al. (1991). Peas seeds were the only source of nitrogen and crude protein of peas created 10 % of dry matter in feed ration.

Chemical analyses

In the tested feeds we assessed the content of nutrients according to the Decree of the Ministry of Agriculture of the Slovak Republic No. 1497/4/1997-100 (crude protein, fibre, fat, ash, starch). Amino acids were determined by ion-exchange chromatography (AAA 400, Ingos Prague Czech Republic) after acid hydrolysis 6-M HCl. Methionine and cysteine were determined after oxidizing hydrolysis.

Processing of results

Results of observation between raw and processed pea seeds were evaluated by statistical programme Statistics, t- test, $P<0.05$.

Results and Discussion

We assessed the content of individual nutrient by chemical analyses (Table 1). The content of crude protein was in the range 222.4 - 237.5 $g.kg^{-1}$ analogous to results of Chrenková et al. (1995), Chrenková and Čerešňáková (2005).

We found lower content of fibre and fat by processed peas. However heat treatment had no significant effect on chemical composition of tested peas.

Table 1: Content of nutrients ($g.kg^{-1}$ DM) in pea varieties

Indices	**Pea -flaked Garde**	**Pea –raw Garde**	**Pea - extruded Zekon**	**Pea - raw Zekon**
Dry matter	907.9	868.7	900.4	877.7
Crude protein	237.5	236.4	235.8	222.4
Fibre	60.3	68.5	50.7	52.3
Fat	15.4	11.4	18.7	12.2
Ash	33.2	31.9	33.9	31.7
Organic matter	966.9	968.1	966.1	968.3

Protein composition is a key component of the end-use value for seed (Weegels et al., 1996). Although the qualitative composition is genetically determined, the quantitative composition is significantly modified by the growing conditions and there are significant genotype and environmental interactions (Graybosch et al., 1996; Huebner et al., 1997; Triboi et al., 2000). The major fractions of pea proteins are albumins and globulins. We determined 56.2 % share of albumins and globulins and 15.5 % share of glutelins of whole content of protein. The similar results were achieved by Van Barneveld (1999). The result of higher content of globulins could be lower content of sulphur amino acid. We determined higher content of arginine (8.81 g/16 g N and 9.09 g/16 g N) and lower content of methionine (0.87 g/16 g N and 0.89 g/16 g N) (Table 2). Eggum et al. (1993) reported significant increases in biological value and in net protein utilization when rats were given supplementary methionine in diet. Because nonruminant animals can convert methionine to cysteine, methionine can satisfy their total requirement for dietary sulphur – containing amino acids. Van Barneveld (1999)

suggested that these characteristics of peas make them ideal complements to cereals for single-stomached animals feeding.

Table 2: Amino acid composition of tested peas

	Pea - raw		**Pea - heat treated**	
Amino acid	**g.kg^{-1}**	**g^{-1}.16 g N**	**g.kg^{-1}**	**g^{-1}.16 g N**
Threonine	8.24	3.71	8.86	3.76
Valine	9.40	4.23	10.14	4.30
Isoleucine	8.61	3.87	9.18	3.89
Leucine	15.20	6.84	16.31	6.92
Phenylalanine	10.26	4.61	11.16	4.73
Histidine	5.27	2.37	5.62	2.38
Lysine	15.11	6.79	15.82	6.71
Arginine	19.59	8.81	21.44	9.09
Methionine	1.94	0.87	2.09	0.89
Cysteine	2.69	1.21	2.83	1.20

Digestibility of crude protein and balance of nitrogen are related with quality of protein. Experimental results of Peas varieties in balance and growth experiment are present in Table 3. We obtained the highest weight gain at the lowest feed consumption per 1 g gain in rats fed extruded pea. We found better conversion of nutrient also in rats fed flaked pea (Table 3). Digestibility of crude protein was significantly lower ($P<0.05$) with Peas in native form (79.6 % and 80.5%) than with flaked pea (83.9 %) and extruded pea (85 %) likewise Huisman et al. (1990).

The amount of excreted nitrogen by urine and feces is result of degradation amino acid which can not be used for synthesis of body protein. We found the least amount of N excreted in urine and better utilization of nitrogen from amino acids resorbed from digestive tract of rats fed extruded pea, it was also confirmed by higher biological value of protein (80.9 %). Also net protein utilization and net protein value were higher for animal fed extruded pea in comparison with rats fed flaked or raw pea (Table 3).

Table 3: Experimental results of pea varieties

Indices	**Pea - flaked Garde**	**Pea – raw Garde**	**Pea - extruded Zekon**	**Pea - raw Zekon**
Intake of CP, g	24.5^{a}	32.1^{b}	30.2^{b}	32.4^{b}
N received from fodder per 1 day, mg	232.4^{a}	218.6^{b}	258.6^{c}	244.3^{a}
N excreted in feces per day, mg	37.5^{ac}	44.6^{b}	38.8^{c}	47.3^{b}
N excreted in urine per 1 day, mg	88.0^{a}	81.6^{b}	79.7^{b}	82.3^{b}
Weight gain, g	33.0^{a}	32.8^{a}	41.5^{b}	40.0^{b}
Feed consumption per 1 g of weight gain, g	8.4^{a}	10.2^{b}	7.5^{c}	8.3^{a}
Retained N from N received (%)	45.9^{a}	42.2^{b}	54.2^{c}	46.8^{a}
BV %	74.0^{a}	73.9^{a}	80.9^{b}	76.9^{c}
PER	1.4^{a}	1.0^{b}	1.4^{a}	1.2^{c}
NPU, %	62.1^{a}	58.8^{b}	68.8^{c}	62.0^{a}
UP, %	6.1^{a}	6.2^{a}	7.5^{b}	6.6^{c}
Digestibility of CP, %	83.9^{a}	79.6^{b}	85.0^{c}	80.5^{b}

Different superscript of means within line indicate significant differences $P<0.05$

Table 4: Content of urea in blood of rats fed raw and treated peas

Indices	**Pea - flaked Garde**	**Pea – raw Garde**	**Pea - extruded Zekon**	**Pea - raw Zekon**
Urea, mmol.l^{-1}	3.65	4.00	3.80	4.06

A part of digested N is deamined and excreted as urea, uric acid and ammonia. We found lower amount of urea in blood of rats fed extruded pea (3.8 mmol.l^{-1}) and flaked pea (3.7 mmol.l^{-1}) than raw pea (4.0 mmol.l^{-1}, resp. 4.1 mmol.l^{-1}) (Table 4).

Conclusion

Heat treatment of pea seeds markedly increased nutritional value of feed but had not significant effect on chemical composition of tested peas. We determined the highest digestibility of extruded pea in comparison with flaked or raw ones. The new cultivars of pea have a very low content of antinutritional factors. It seems that it is not necessary heat treatment of peas for nonruminant

feeding. Chrenková et al. (2005) suggested using heat processed pea in animal feeding because of better conversion of nutrient. This is in compatibility with our results of experiment.

References

Andreson, V. (1998): Peas in diets for growing heifers, backgrounding and finishing steer calves (Progress Report). NDSU Carrington Research Extension Center Beef and Bison Field Day Proceedings, 21, 33-39

Eggum, B. O. (1973): A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs. 406. Beretnig fra fordogslaboratoriet, 17-30

Eggum B.O, Tomes G., Beames R.M, Datta F.U (1993): Protein and energy evaluation with rats of seed from 11 lupin cultivars. Anim Feed Sci Technik, 43, 109-119.

Graybosch, R.A., Peterson C.J., Shelton D.R., Baenziger P.S. (1996): Genotopic and environmental modification of wheat flour protein composition in relation to end – use quality. Crop Sci., 36, 296-300

Heger, J., Salek, M., Eggum B.O. (1991) : Nutritional value of some Czechoslovak varieties of wheat, triticale and rye. Anim. Feed Sci. Technol., 29, 89-100

Huebner, F.R., Nelsen, T.C., Chung, O.K., Bietz, J.A. (1997) : Protein distributions among hard red winter wheat varieties as related to environment and baking quality. Cereal Chemistry, 74, 123-128

Huisman, J., Le Guen, M.P., Gueguen, J., Beelen, J.M. (1990) : Digestive response of piglets to isolated fractions from peas. Thesis, Agricultural University of Wageningen, Netherlands, 81-97

Chrenková, M., Čerešňáková, Z., Sommer, A., Sojková, Z., Slaměna, Z. (1995) : Influence of cultivar and year on biological value of pea. J. Anim .Sci., 28, 29-33

Chrenková, M., Čerešňáková, Z. (2005) : Využitia hrachu na kŕmenie HD je jednou z najefektívnejších ciest úspory nákladov. Slov.Chov, 4, 40

Chrenková, M., Chrastinová, Ľ., Čerešňáková, Z., Červeňová, R., Sochová, P. (2005) :Nutritive value of feed mixtures on basis of peas tested in rats. J. Anim. Sci., 38, 151-156

Jaikaran, S., Aherne, F.X., Caine, W.C. (2001) : Extruded Peas for Weaner Pigs. Advances in Pork Production, 12, A3 (abstract)

Leterme, P., Monmart, T., Baudart, E.(1992) : Varietal distribution of the trypsin inhibitor activity in peas. Anim. Feed Sci. Tech., 37, 309-315

Marquardt, R.R, Bell, J.M. (1988) : Future potential of pulses for use in animal feeds. World Crops : Cool Season Food Legumes. R.J. Summerfield (ed.), 421-444

MP SR (1997) : Decree of the Ministry of Agriculture of Slovak Republic No. 1497/4/1997-100 on official sampling and laboratory tests of feeds- Vestník MP SR, 29, 1997

O'Doherty, J.V., Keady, U. (2000): The nutritive value of extruded and raw peas for growing and finishing pigs. Anim. Sci., 70, 265-274

Sarwar, G., Sepher, E. (2003): Protein digestibility and quality in products containing antinutritional factors and adversely affected by old age rats. J. Nutr., 133, 220-225

Triboi et al. (2000) : Environmental effects on the quality of two wheat genotype. 1. quantitative and qualitative variation of storage proteins. European Journal of Agronomy, 13, 47-64

Van Barneveld, R.J. (1999) : Understanding the nutritional chemistry of lupin (Lupinus spp.) seed to improve livestock production efficiency. Nutrition Res. Reviews, 12, 203-230

Weegels, P.L., Hamer, R.J., Schofield, J.D. (1996) : Critical review : functional properties of wheat glutenin. J.Cereal Sci., 23, 1-18

Address of corresponding author

Ing. Janka Sudzinová, PhD.
Slovak Agricultural Research Centre,
Research Institute for Animal Production, Department of Nutrition
Hlohovska 2
949 92 Nitra
Slovak Republik

The mycotoxins' Effect on Growth Parameters of Laboratory Rats

P. Kratochvílová, L. Novák, L. Zeman

Mendel University of Agriculture and Forestry Brno

Introduction

Mykotoxins are significant problem, which has been put in appearance as late as the second half of 20th century. Today, almost 400 type of mycotoxin is described. They are produced by broad-spectrum of fungal pathogen, but only occurance of most frequented and harmful ones are checked regularly. In Czech Republic problem of mycotoxicosis is restricted mostly to Fusarium toxins, which contaminates feed and food raw materials significantly. Higher contamination of these matters mainly in growing season with excessive rainfall and relatively colder weather is to be premised. Considerate preparing of ground after erosion during winter and early spring, frequent maize cultivation before wheat cultivation and intensive using of fungicide agent to protection from phytopathogenic fungi create conditions for species of Fusarium producing toxin (BECK, 2000). From the economically and sanitary point of view most important seems to be Deoxynivalenol and Zearalenon. As indicator of total mycotoxin contamination especially Deoxynivalenol might be considered.

According to DANICKE at al. (2004) a trend toward a decrease in weight yield of pigs was observed when wheat contaminated mainly with deoxynivalenol (DON) was gradually blended to diets with increasing DON concentrations (0.2, 0.7, 1.2, 2.5, 3.7 mg/kg) at total wheat content of 400 g/kg diet. This was especially true for the group fed the diet with 3.7 mg DON/kg, which consumed 5% less feed and gained 8% less liveweight than the control group.

DOLL et al. (2003) carried an experiment, with piglets to examine the effects of increasing amounts of Fusarium toxins in the diet on their performance. Fusarium toxin of contaminated maize (1.2 mg ZON and 8.6 mg DON per kg maize) was incorporated into a maize based diet for piglets at 0, 6, 12.5, 25 and 50% at the expense of control maize. Voluntary feed intake and, consequently, body weight gain of the animals receiving the highest proportion of Fusarium toxin with contaminated maize was significantly decreased while the feed conversion ratio was not affected by the treatment.

Material and Methods

In experimental equipment of Department of Animal Nutrition and Forage Production at Agronomic Faculty of Mendel University of Agriculture and Forestry Brno two experiments were finished. As experimental model, Wistar male albino rats from conventional breeding at Medicine Faculty of Masaryk University were in growing experiment used.

Experimental animals were kept in vivarium with regulated air temperature (in range 23 $\pm$ 1°C), photoperiod (managed artificially according to scheme 12 hours day: 12 hours night with maximal intensity 200 lx), and continual air humidity at level of 60 %. From chemical conditions was limited CO_2 content in stable air – max. 0.25 % and NH_3 content – max. 0.0025 %).

Rats were stabled to plastic cages with slotted floor. Animals were color-coded to provide individual monitoring of growth intensity, emergence and health state. Tempered feed mixtures and drinking water were accessible *ad libitum*, feed consumption was monitored in groups. Leavings of non-consumed feeds and faeces were sampled in groups, dried and weighted – uneaten feedstuff for experimental groups' net feed intake determination. Animals were weighted once a week and at the same time monitored weight gain, feed intake, conversion and health state.

In the first growth experiment 64 Wistar male albino rats entered in age 40 days. In the second experiment 32 animals entered in age of 29 days. The animals were allotted to 4 groups (16 male rats per group). Average initial weight in groups was in range from 130.3 to 130.7 g, the second experiment 57,5 to 57,9 which is conform to standard specification, according to which maximal difference between groups 5g is to be admitted (KACEROVSKÝ, 1990).

There were used 4 feed mixtures with different amounts naturally molded wheat because naturally contained feedstuff feeding result in higher toxicity than feeding of purified mycotoxins in the in the same amount (TRENHOLM et al. 1994). To come in agreement with regulation all components were put together as shown in Table 2. Differences between experimental diets were in modification percentage content of mould wheat in relation to total wheat content. Scheme of experimental diet composition see Table 1. and Table 2. Composition of the feed served in the second experiment is shown in Table 3a and Table 3b.

Tab. 1: Scheme of experimental diets composition Experiment 1

Group		**Unit**	**Control**	**20**	**40**	**60**
% mould wheat of total wheat		%	0	20	40	60
Feedstuff	Mould wheat	%	0	12.6	25.2	37.8
	Non-mould wheat	%	63	50.4	37.8	25.2
	Soybean meal 45%	%	2	2	2	2
	Faba-bean – variety Merkur	%	21	21	21	21
	Starch	%	7.8	7.8	7.8	7.8
	Sunflower oil	%	3	3	3	3
	Minerals	%	3	3	3	3
	Vitamins	%	0.2	0.2	0.2	0.2

Tab. 2: Analysis results of Experiment 1 feed mixtures

Group	**Units**	**Dry matter**	**Ash**	**Nitrogen substances**	**Fiber**	**Fat**	**Brutto energy**
Control	%	91.95	4.26	12.83	3.00	4.29	16.59
20	%	91.85	3.93	12.98	3.20	4.31	16.64
40	%	92.29	4.14	13.25	3.52	4.31	16.66
60	%	92.21	4.84	13.55	3.75	4.12	16.74

Table 3a: Scheme of experimental diets Experiment 2

Group		Unit	Control	20	40	60
Feedstuff	Mould wheat	%	0	20	40	60
	Non-mould wheat	%	60	40	20	0
	Maize	%	20	20	20	20
	Soyabean meal 45%	%	2	2	2	2
	Faba bean – variety Merkur	%	10	10	10	10
	Peas	%	2	2	2	2
	Starch	%	0.8	0.8	0.8	0.8
	Sunflower oil	%	2	2	2	2
	Minerals and vitamins	%	3.2	3.2	3.2	3.2

Table 3b: Calculated nutrient composition

Component	Dry matter	Crude protein	Fat	Fibre	Nitrogen free extract	Lysine
Feed mixture	878.20	133.18	41.81	28.84	620.12	5.05

Before beginning of both experiments naturally mould feedstuff used in experimental diets was sampled for mycotoxins content analysis. Chemical analysis was carried out according to principles, mentioned by KACEROVSKÝ et al. (1990). Sampling was accomplished according to Ministry of Agriculture regulation no. 497/2004 Collection of Laws. Results of diets analysis are mentioned in Tab. 2. Concentrations of mycotoxins in feed mixtures are mentioned in Tab. 4. Amount of ingested mycotoxins per animal during 28 days of experiment is presented in Table 5.

Tab. 4: Mycotoxin content in experimental diets.

Experiment 1				
Group	**Mycotoxin content in feed mixtures (µg/kg)**			
	Ochratoxin A	∑ aflatoxiny	T-2 toxin	DON
Control	0	0	0	0
20	15.876	0	1.008	36.5
40	31.752	0	2.016	73.1
60	47.628	0	3.024	110
Experiment 2				
Group	Ochratoxin A	∑ aflatoxiny	T-2 toxin	DON
Control	0	0	0	0
20	0.302	0.51	2.406	134
40	0.604	1.02	4.812	268
60	0.906	1.53	7.218	402

Tab. 5: Content of ingested Mycotoxins.

Experiment 1				
Group	**Content of ingested mycotoxins (µg/animal/28 days)**			
	Ochratoxin A	∑ aflatoxiny	T-2 toxin	DON
Control	0	0	0	0
20	11.12	0	0.71	25.58
40	22.03	0	1.40	50.71
60	33.43	0	2.12	76.93
Experiment 2				
Group	Ochratoxin A	∑ aflatoxiny	T-2 toxin	DON
Control	0	0	0	0
20	0.16	0.25	1.19	66.01
40	0.35	0.50	2.37	132.01
60	0.53	0.75	3.56	198.02

Results and discusion

In the experiment 1 the best outcome of total average weight gain growth during 28 days, from monitored collection reached group 40 (total weight gain was 156.4 g), the lowest weight gain (148.3 g) the group 60 with the highest level of mould wheat. Average weight gain is presented in Figure 1. The lowest feed intake was recorded in group 20 (700.2 g) in comparison to the best feed intake found out in Control-group (720.9. g). The lowest feed conversion appeared in-group 40; the highest feed conversion was on contrary observed in the Control-group. Results of body mass increase in experimental groups are noticed in Table 6. It is evident that animals did not respond appropriate to increasing level of mould feedstuff. Differences between weight gains among experimental groups are not significant.

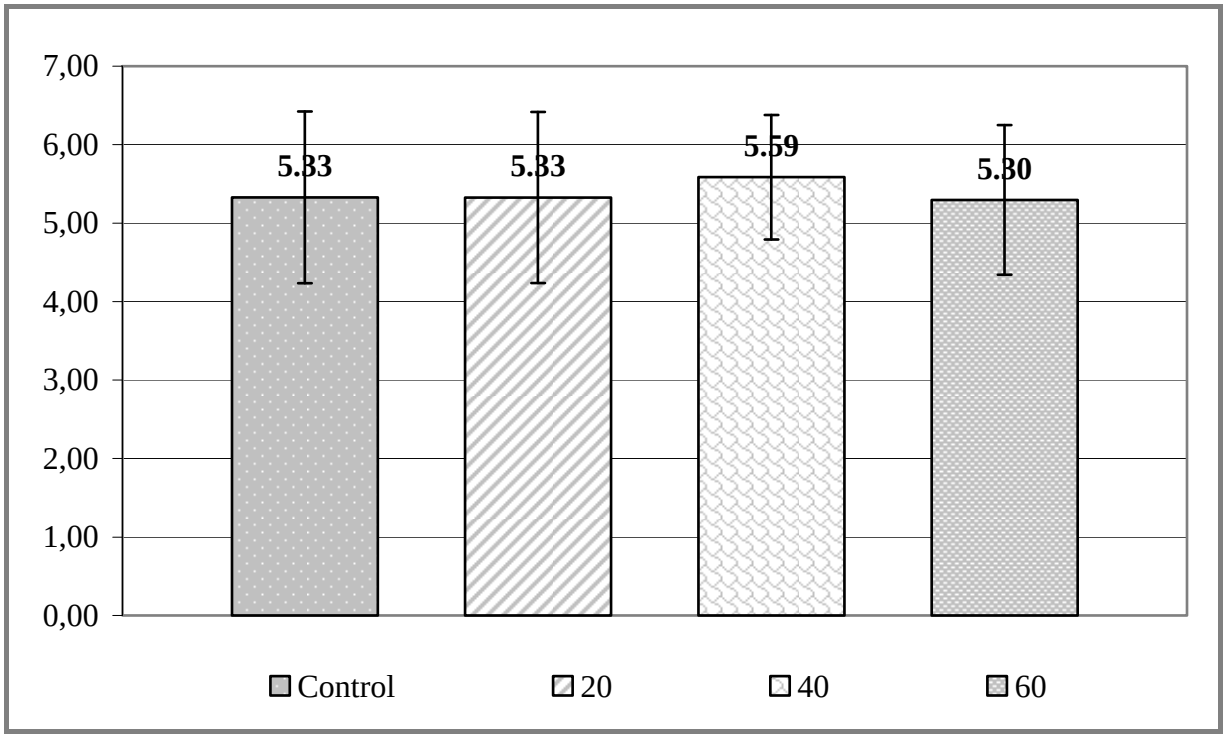


Figure 1: Average weight gain (g/animal/day) of Experiment 1

Tab. 6: Summary of growth process results of Experiment 1

Group	Total average weight gain (g)	Average weight gain (g/animal/day)	Total feed intake (g/animal)	Feed conversion (g/g)
Control	149.2	5.33	720.9	4.83
20	149.1	5.33	700.2	4.69
40	156.4	5.59	693.9	4.44
60	148.3	5.3	701.8	4.76

The best outcome in the experiment 2 was reached in the Control group (total weight gain in 28 days was 128.2 g, the lowest 124.13 g was recorded in group 40 fed with content of 40 % mould wheat in the served rations. Average weight gains of all groups are presented in Figure 2. The lowest feed intake was recorded in Control group (513.5 g). The best results of feed intake were found out in group 60 (585.5 g). The lowest feed conversion appeared in Control group, the highest feed conversion was on contrary observed in the group 40. Results of body mass increase in experimental groups are noticed in Table 7. Differences between treatments were minor and not significant as well as in Experiment 1. There were no differences in health state of animals, however animals in treatment groups had bald. The last day of experiment were sampled hair and derma for microbiological analysis and there was not found dermatophytic moulds. It indicates the possibility that bald might be inducted by mycotoxins ingested in feed.

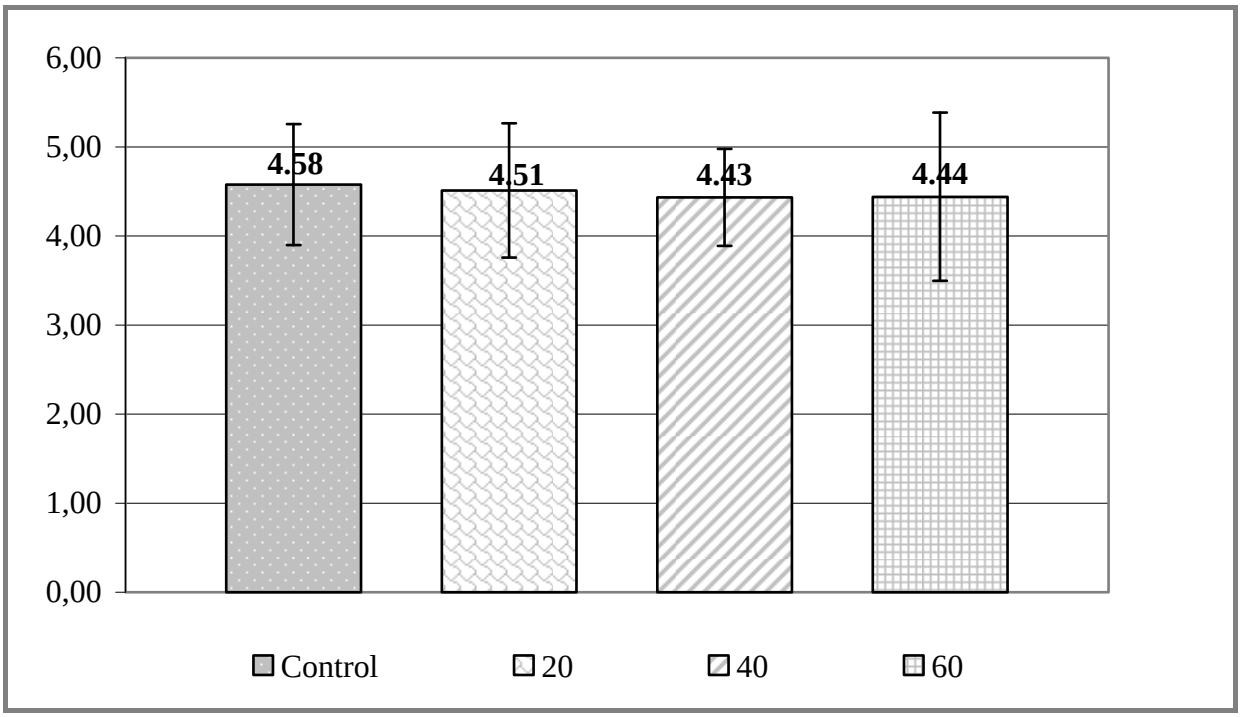


Figure 2: Average weight gains g/animal/day of Experiment 2

Table 7: Summary of growth process results of Experiment 2

Group	Total average weight gain (g)	Average weight gain (g/animal/day)	Total feed intake (g/animal)	Feed conversion (g/g)
Control	128.21	4.58	513.5	4.00
20	126.34	4.51	528.3	4.18
40	124.13	4.43	574.8	4.63
60	124.36	4.44	585.5	4.7

It is evident that DON present in mould feedstuff in maximum amount of 400 µg/kg mixture does not affect weight gain of rats. The question remains open in what degree DON and other mycotoxins do interfere with enzymatic processes involved in digestion and utilization of served nutrients. Animals in Experiment 2 had got bald; however analysis had excluded the presence of dermophytic moulds as possible cause. We did not find any reference, which mention similar manifestation of mycotoxins in rats. ZEMAN et al. (2006) mention mycotoxins manifestations insult of parenchymatic organs, cerebrum, impair blood coagulation, lower immune state etc. But the body weight increase in our experiments with rats was not impaired.

Conclusion

The results of experiments on male Wistar albino rat document that relatively high proportion of mould grain representing the cumulative intake of 25.58 ; 50.71 a 76.93 µg DON combined with 11.12; 22.03 a 33.43 µg ochratoxin did not alter the body weight increase during the 28 day fattening. The variation in body weight increase compared to the control groups were statistical not significant.

References

Danicke, S., Goyarts, T., Valenta, H., Razzari, E., Bohm, J.. 2004. On the effects of deoxynivalenol (DON) in pig feed on growth performance, nutrients utilization and DON metabolism. Journal of animal and feed science 13:539-556..

Döll, S., Dänicke, S., Ueberschär, K. H., Valenta, H., Schnurrbusch, U., Ganter, M.,. Klobasa, F., Flachowsky, G., 2003. Effects of graded levels of Fusarium toxin contaminated maize in diets for female weaned piglets. Arch. Anim. Nutr. 57:311–334.

BECK, R. & LEPSCHY, J., 2000: Fusarium Monitoring 1989 – 1999: Einfluss der productionstechnischen Fakroten Fruchtfolge und Bodenbearbeitung. Bodenkultur und Pflanzenbau 4, 39 – 48.

Kacerovský O., 1990: Zkoušení a posuzování krmiv. 1.vyd. Praha: SZN: 216 - 217. ISBN 80-209-0098-5

Nedělník J., Moravcová H., Hanzlová A., 2006: Mykotoxiny v krmivech, Krmivářství, č. 3, s. 18-23. ISSN 1212-9992

NRC, 1995: Nutrient Requirements of Laboratory Animals. National Academy Press.Washington, Dc., 157 str.

TRENHOLM, H.L.,. foster, B.c,. charmley, L.l, thompson, b.k.,. Martin, k.e,. coppock, r.v, and. Albassam, m.a, 1994: Effect of feeding diets containing Fusarium (naurally) contaminated wheat or pure deoxivalenol (DON) in growing pigs. Can. J. Anim. Sci. 74: 361-369

Vyhláška MZe č. 497/2004 Sb., kterou se mění vyhláška MZe č. 124/2001 Sb., kterou se stanoví požadavky na odběr vzorků a principy metod laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů a způsob uchovávání vzorků.

Vyhláška č. 77/2005 Sb., kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 451/2000 Sb., kterou se provádí zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů.

Zeman a kol., 1995: Katalog krmiv. VÚVZ Pohořelice: 465. ISBN 80-901598-3-4.

http://sweb.cz/HPLC1/Mycotoxins/index.htm

ZEMAN, L., et al. Výživa a krmení hospodářských zvířat., 1. vyd. Praha : Profi Press, s. r. o., 2006. 360 s. ISBN 80-86726-17-7.

Address of the author

Ing. Pavla Kratochvílová
Department of animal nutriton and forage production
Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno
Zemědělská 1, Brno, 613 00
e-Mail: xkratoc5@mendelu.cz

Apparent and true ileal amino acid digestibility of rye in piglets and finishing pigs

S. Nitrayová, J. Heger, P. Patráš, M. Brestenský

Slovak Centre of Agricultural Research, Research Institute of Animal Production, Dept. of Animal Nutrition, Nitra, Slovakia

Introduction

It is generally accepted that the ability of pigs to digest protein increases with age (Fernández et al. 1986, Etienne et al. 1997). This was attributed to the microbial activity of the hindgut which was shown to be higher in older animals (Shi and Noblet 1993). However, there are other factors which may be involved in the processes of protein digestion and absorption such as longer transit time of digesta along the small intestine in older pigs, higher activity or secretion rate of digestive enzymes or a relative decrease in endogenous amino acid (AA) losses with advancing age. Leterme and Théwis (2004) studied the effect of body weight of pigs on ileal flow of endogenous AA and found that, when expressed per kg dry matter intake (DMI), small pigs excreted more endogenous N than large pigs. Consequently, the apparent AA digestibility may be lower in young pigs while true digestibility, which is corrected for endogenous losses, may be comparable with that found in older pigs. To test this hypothesis, a digestibility experiment was carried out to estimate apparent and true ileal digestibility of AA and of total N in pigs at two body weights (20.6 and 61.7 kg) fed a rye-based diet.

Materials and methods

Six Large White young gilts (mean body weight 20.6 kg) fitted with a simple T-cannula at terminal ileum were housed in metabolism cages and fed a rye-based diet (Table 1). The digestibility study consisted of a 6-day preliminary period followed by a 24-h collection period during which samples of ileal digesta were collected in 60-min intervals, pooled and freeze-dried for subsequent analysis of AA, total N and Cr_2O_3. The digestibility study was repeated on the same pigs fed the same diet when they reached mean BW 61.7 kg. In both parts of the study, the pigs were fed the experimental diet at a rate of 90 g/kg$^{0.75}$. Coefficients of apparent ileal digestibility of AA and N were calculated using the following formula:

$$\text{Digestibility (\%)} = 100 \times [1-(N_i \times C_d)/(N_d \times C_i)]$$

where N_d = dietary concentration of the nutrient under study, C_d = dietary concentration of Cr_2O_3, N_i = concentration of the nutrient in ileal digesta and C_i = concentration of Cr_2O_3 in ileal digesta (all values in g.kg^{-1} dry matter). For the estimation of true digestibility, ileal concentrations of AA and of total N were corrected for endogenous losses which were calculated using regression equations relating endogenous losses to body weight. The equations were derived from work by Leterme and

Théwis (2004). The significance of differences between digestibility values at two body weights was evaluated by a paired t-test using Statgraphic Plus package v. 3.1.

Table 1. Composition of the basal diet (g/kg, air-dry basis)

Rye	958,0
Soyabean oil	9,0
Monocalcium phosphate	11,0
Limestone	13,0
Salt	3,0
Cr_2O_3	3,0
Premix[1]	3,0
Chemical analysis	
Dry matter	900,3
Crude protein	136,7
Ether extract	26,3
Ash	43,6
Crude fibre	28,6

1 Supplied per kg of diet: vit. A, 7200 IU; vit. D3, 1350 IU; α– tocopherol 18 mg; vit. B1, 0.54 mg; vit. B2, 3.6 mg; vit. B6 19.5 mg; Ca-pantothenate, 10.5 mg; niacin, 15 mg; vit. K3, 0.54 mg; biotin, 0.06 mg; cyanocobalamin, 0.021 mg; choline, 102 mg; betaine, 51 mg; Fe, 60 mg; Zn, 90 mg; Mn, 42 mg; Cu, 21 mg; I, 0.42 mg; Co, 0.54 mg; Se, 0.21 mg.

Results and discussion

The data on apparent and true ileal digestibilities of AA and of total N are summarized in Table 2. Except for methionine and phenylalanine, the coefficients of apparent digestibility of AA were higher in older pigs than in piglets and the same was true for the digestibility of total N. The differences for total AA, total N as well as for most individual AA were significant ($P<0.05$). On average, the digestibility in older pigs was about 6 % higher than in piglets. In accordance with other similar studies (Barrera et al. 2004, Diebold et al. 2004, Nitrayová et al. 2006), the highest digestibility values were found in glutamic acid and arginine while the digestibility of glycine was very low.

In constrast, the comparison of true digestibility data for both body weight groups gave opposite results. The digestibility of most AA was higher in piglets than in heavier pigs, the only exception being glutamic acid and tyrosine. Although the effect of body weight was significant in nine out of seventeen AA, no significant difference was found for total AA or total N. As compared with the heavier pigs, the digestibility of total N in piglets was 4 % higher. The difference between apparent and true ileal digestibility of total N in piglets was 26 %. It is interesting to note that a much larger difference (54 %) was observed in glycine, presumably due to the high concentration of this AA in endogenous protein (de Lange et al. 1989, Hodgkinson et al. 2000).

Table 2. Effect of body weight on apparent and true ileal digestibility of amino acids and total N (%)

Amino acid	Apparent		True		Pooled
	20.6 kg	61.7 kg	20.6 kg	61.7 kg	SEM
Arginine	78,8	82,3 *	86,0	85,3	0,6
Histidine	70,5	72,8	81,2	77,2 *	1,2
Isoleucine	68,2	70,8	80,2	78,7	1,4
Leucine	74,5	78,8 *	89,8	85,3 *	1,2
Lysine	66,7	71,2 *	84,5	80,0 *	1,4
Methionine	74,5	74,2	98,0	86,7 *	1,2
Phenylalanine	75,3	75,0	86,2	82,2	1,9
Threonine	62,8	69,0 *	82,5	78,3	1,7
Valine	68,7	71,8 *	83,8	79,3 *	1,6
Alanine	59,0	62,8	87,8	74,8 *	1,8
Aspartic acid	68,8	72,0 *	83,7	79,3 *	1,1
Cystine	63,0	68,8	95,2	87,2 *	2,3
Glutamic acid	85,8	88,1 *	89,8	90,7	0,8
Glycine	47,3	55,0	72,7	67,3	2,3
Proline	71,2	71,7	89,5	79,2	4,1
Serine	68,2	74,5 *	93,8	87,5 *	1,2
Tyrosine	60,2	78,5 *	75,3	89,0 *	2,0
Total amino acids	68,1	72,5 *	85,5	81,3	1,0
Total N	62,3	67,0 *	78,5	75,2	1,0

* Significant difference ($P<0.05$)

The present results suggest that the young pigs weighing about 20 kg posses sufficient capacity to digest protein and that the low apparent AA digestibility reported in the literature might have been an underestimation resulting from the relative high endogenous N losses in young animals. It has been generally postulated that endogenous N losses present a constant fraction of DMI (Butts et al. 1993), being independent on body weight (Furuya and Kaji 1992, Stein et al. 1999). However, the results of recent experiments studying specifically the effect of body weight on endogenous N and AA losses in pigs clearly showed that, when expressed per kg DMI, endogenous losses decreased with increasing body weight (Hess and Sève 1999, Leterme and Théwis 2004). The decrease was apparent particularly in body weight range of 24 - 60 kg (Leterme and Théwis 2004). There are other reports supporting the above findings (Schulze et al. 1995, Leterme et al. 2000). This phenomenon may be explained by higher protein turnover of intestinal tissue of young pigs as compared to older ones (Leterme and Théwis 2004) or by higher absorptive capacity of older animals (Buddington 1997), leaving minimum endogenous protein in the small intestine. With regard to the limited number of papers studying the relationship between body weight and ileal flow of endogenous protein, the present data on true ileal digestibility are subject to error resulting from the accuracy of estimation of

AA and total N ileal losses. Further experiments are needed to obtain reliable information on the effect of body weight as well as other factors on the endogenous AA losses.

References

Barrera M., Cervantes M., Sauer W.C., Araiza A.B., Torrentera N., Cervantes M. (2004): Ileal amino acid digestibility and performance of growing pigs fed wheat-based diets supplemented with xylanase. Journal of Animal Science 82, 1997-2003.

Buddington R.K. (1997): Intestinal nutrient transport during the life history of swine. In: Digestive Physiology in Pig, J.P. Laplace, C. Février, A. Barbeau eds, EAAP Publ. 88, Rome, 118-126.

Butts C., Moughan P., Smith W., Reynolds G., Garrick D. (1993): Effect of dry matter intake on endogenous ileal amino acid excretion determined under peptide alimentation in the 50 kg liveweight pig. J. Sci. Food Agric. 62, 235-243.

de Lange C.F., Sauer W.C., Souffrant W.B., Lien K.A. (1989): The effect of feeding protein-free diets on the recovery and amino acid composition of endogenous protein collected from the distal ileum and feces in pigs. J. Anim. Sci. 67, 746-754.

Diebold G., Mosenthin R., Piepho H.P., Sauer W.C. (2004): Effect of supplementation of xylanase and phospholipase to a wheat-based diet for weanling pigs on nutrient digestibility and concentrations of microbial metabolites in ileal digesta and feces. Journal of Animal Science 82, 2647-2656.

Etienne M., Noblet J., Dourmad J.Y., Castaing J. (1997): Digestive utilization of feeds in lactating sows. Comparison with growing pigs. In: Digestive Physiology in Pigs, J.P. Laplace, C. Fevrier, A. Barbeau eds, EAAP Publ. No. 88, St. Malo, France, 583-586.

Fernández J.A., Jorgensen H., Just A.(1986): Comparative digestibility experiments with growing pigs and adult sows. Anim. Prod. 43, 127-137.

Furuya S., Kaji Y. (1999): The effects of feed intake and purified cellulose on the endogenous ileal amino acid flow in growing pigs. Br. J. Nutr. 64, 569-587.

Hess V., Sève B. (1999): Effects of body weight and feed intake level on basal ileal endogenous losses in growing pigs. J. Anim. Sci. 77, 3281-3288.

Hodgkinson S.M., Moughan P.J., Reynolds G.W. (2000): Effect of the duration of feeding of a protein-free diet on endogenous ileal nitrogen and amino acid loss in the growing pig. J. Sci. Food Agric. 80, 1407-1412.

Leterme P., Souffrant W., Théwis A. (2000): Effect of barley fibres and barley intake on the ileal endogenous nitrogen losses in piglets. J. Cereal Sci. 31, 229-239.

Leterme P., Théwis A. (2004): Effect of pig body weight on ileal amino acid endogenous losses after ingestion of a protein-free diet enriched in pea inner fibre isolates. Reprod. Nutr. Dev. 44, 407- 417.

Nitrayová S., Patráš P., Sommer A., Heger J. (2006): Effect of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility of phosphorus-adequate diets in growing pigs. Arch. Anim. Nutr. 60, 131-140.

Schulze H., van Leeuwen P., Verstegen M., van den Berg J. (1995): Dietary level and source of neutral detergent fiber and ileal endogenous nitrogen flow in pigs. J .Anim. Sci. 73, 441- 448.

Shi X.S., Noblet J. (1993): Contribution of the hindgut to digestion of diets in growing pigs and adult sows: Effect of diet composition. Livest. Prod. Sci. 34, 237-252.

Stein H., Trottier N., Bellaver C., Easter R. (1999): The effect of feeding level and physiological status on total flow and amino acd composition of endogenous protein at the distal ileum in swine. J. Anim. Sci. 77, 1180-1187.

Corresponding author

MVDr. Soňa Nitrayová, PhD.
Slovak Centre of Agricultural Research, Research Institute of Animal Production
Department of Animal Nutrition,
Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovakia
e-mail: nitrayova@scpv.sk

Einfluss der Mischfutterzusammensetzung auf Eubiose im Darm von Absetzferkeln

A. Jerešiūnas[1], R. Stankevičius[1], J. Kulpys[1], J. Šiugždaitė[2]

[1] Litauische Veterinärmedizinische Akademie, Abteilung für Tierernährung
[2] Litauische Veterinärmedizinische Akademie, Abteilung für infektiöse Krankheiten

Einleitung

Futtermittel sowie ihre Qualität haben großen Einfluss auf Leistung und Gesundheit von Ferkeln. Auf Futtermittel entfallen ca. 70% der Gesamtkosten in der Tierproduktion. Deshalb hat die Mischfuttergestaltung in der Schweinefütterung eine entscheidende ökonomische Bedeutung.

Absetzen verursacht beim Ferkel Stress, wodurch sein Wachstum und Immunstatus beeinträchtigt werden können (Simon, 2001). In der Absetzphase sind deshalb optimale Fütterungsbedingungen zu gewährleisten, insbesondere ist es auf leicht verfügbare Futtermittel guter Qualität zu achten, die auch Darmbesiedlung positiv beeinflussen. Die normale Darmflora hat großen Einfluss auf Gesundheitsstatus, Immunitätsbildung und Krankheitsresistenz von Ferkeln (Lovatto et al., 2005). Absetzstress wirkt sich negativ auf die Besiedlung des Darms mit Bifidobakterien aus, wodurch ihre Zahl reduziert wird (Howard et al., 1995). Gestörte Darmflora kann Erkrankungen, Wachstumsdepressionen und sogar Ferkelverluste zur Folge haben. Reduzierte Besiedlung des Darms mit nützlichen Bakterien (Bifidobakterien, Enterococcus) begünstigt Vermehrung von pathogenen Keimen (Bertschinger und Fairbrothe 1999). Für Stabilität einer gesunden Darmflora zu sorgen ist demzufolge eine wichtige Aufgabe in der Ferkelhaltung, um gute Leistungen und Gesundheit der Tiere gewährleisten zu können.

Für stabile Darmflora haben jahrelang Fütterungsantibiotika gesorgt (Kasper, 1998; Roth und Ette, 2005; Kroismayr et al., 2005). Derzeit sind lediglich therapeutische Antibiotika zugelassen. Antibiotische Leistungsförderer sollten durch andere Futterzusätze wie organische Säuren, Probiotika und Prebiotika ersetzt werden (AWT, 2004; Mosenthin, 2002; Hamidreza und Werner, 2005; Tsiloyiannis et al., 2001). Futterzusätze dieser Art werden eingesetzt, um pathogene Keime im Ferkeldarm zu unterdrücken (Denis et al., 1995; Tsiloyiannis et al., 2001).

Zu Probiotika werden von den meisten Forschern auch Eubiotika (übliche Mikroorganismen im Darm) gerechnet. Es handelt sich dabei meistens um Bifidobakterien und Mikroorganismen der Gattung *Lactobacillus,* die aus dem Darm der Tiere gewonnen werden und tierische Gesundheit positiv beeinflussen. Den Eubiotika wird probiotische Wirkung zugeschrieben. Natürliche Darmbakterien beeinflussen positiv Darmschleimhaut und bilden eine Schutzschicht, die das Anheften von krankheitserregenden Bakterien verhindert. Außerdem sind Bifido- und Milchsäurebakterien intensiv an dem gesamten Stoffwechsel im Tierkörper beteiligt. Unerwünschte Bakterien (*Escherichia coli, Citrobacter spp.*), Pilze (*Ryzopus spp., Cordiceps* spp.) und Hefe (*Saccharamyces, Candida pintolepessii*) kommen im Darm deshalb nicht vor (Asahara et al., 2001; Ishibashi et al., Yamazaki, 2001; Ohya et al., 2001; Rolfe, 2000).

Wachstum und Immunität sind auch vom Nährwert der verwendeten Futtermittel abhängig. Daher ist ausgewogene Nährstoffzusammensetzung des Starterfutters für Absetzferkel von besonderer

Bedeutung. Zu seiner Herstellung sollen Futtermittel mit hoher Nährstoffverdaulichkeit verwendet werden. Wie bekannt, infolge des noch nicht vollständig funktionsfähigen Verdauungssystems in der Absetzphase werden von Ferkeln Futtermittel tierischer Herkunft, die verhältnismäßig teuer sind, am besten verwertet. Um Futtermischungen preisgünstiger zu gestalten, erscheint somit Verwendung alternativer pflanzlicher Futtermittel als zweckmäßig. Im gewissen Umfang wird Darmflora von Ferkeln auch durch Mischfutterzusammensetzung beeinflusst (Moore et al., 1987; Mathew et al., 1987). Austausch tierischer Futtermittel durch pflanzliche darf jedoch keinen negativen Effekt auf Darmbesiedlung beim Ferkel bewirken.

Mastleistung von Schweinen ist in hohem Maße von der Zusammensetzung des Starterfutters abhängig. In der Absetzferkelfütterung ist demzufolge auf Folgendes zu achten: Erstens, Futter für Absetzferkel soll hochverdaulich und nährstoffreich sein. Zweitens, er soll ähnliche Futtermittel enthalten wie späteres Mastfutter. Drittens, er soll fortschreitende Entwicklung des Verdauungstrakts positiv beeinflussen und seine noch nicht vollständige Funktionsfähigkeit ausgleichen. Viertens, Starterfutter für Absetzferkel muss sicher sein und keine negative Wirkung auf Darmflora haben.

Es wurde nachgewiesen, dass das in Litauen zur Herstellung von Starterfutter verwendete Fischmehl häufig mit *Escherichia coli* und/oder *Clostridium perfringens* kontaminiert ist. Als häufige Ursache von Durchfallerscheinungen und Wachstumsdepressionen werden unsichere Futtermittel genannt. Daraus resultiert die Notwendigkeit, ein Futtermittel zur Herstellung von Starterfutter für Ferkel zu finden, das sicher, hochverdaulich und nährstoffreich ist, positive Wirkung auf Darmflora hat und in Herkunft dem Rohstoff entspricht, der später in Mastfuttermischungen verwendet wird. Als Ursache einer verminderten Nährstoffaufnahme wird auch Maillard-Reaktion genannt, die bei längerer Lagerung eiweißreicher tierischer Futtermittel auftritt (Jeroch et al., 1999). Endprodukte der Maillard-Reaktion sind dem enzymatischen Abbau nur schwer zugänglich, vor allem wird die AS-Verdaulichkeit stark herabgesetzt, weiter kommt es zu Störungen der Fermentationsvorgänge im Dickdarm (Ulbrich et al. 2004).

In diesem Zusammenhang sollte in der vorliegenden Studie untersucht werden, inwieweit Einsatz des Sojaproteinkonzentrats „HP 300" anstelle von Fischmehl den Gesundheitsstatus von Absetzferkeln, Darmflora, Wachstumsleistung, Futterverzehr und Futteraufwand beeinflusst.

Material und Methoden

2005 wurde der Versuch mit 38 Absetzferkeln der Kreuzung Litauische Weiße (weiblich) mit den Vaterrassen Norwegische Landrasse und Yorkshire in einem Schweinebetrieb, Bezirk Pakruojis, Litauen, durchgeführt. Die Tiere im Alter von ca. 40 Tagen wurden in zwei Gruppen mit je 19 Tieren eingeteilt. Beide Gruppen waren jeweils identisch bezüglich Alter, Gewicht, Geschlecht und genetischer Konstruktion der verwendeten Tiere. Bei der Gruppe I handelte es sich um eine Kontrollgruppe, bei der Gruppe II um eine Versuchsgruppe. Der Versuch war zweiphasig. Der erste Versuchsabschnitt belief sich auf 27 Tage, der zweite auf 14 Tage (insgesamt 41 Tage). In der gesamten Prüfperiode waren Futtermischungen der beiden Gruppen in Bezug auf ihre Zusammensetzung und Nährstoffgehalte vergleichbar.

Ferkel bekamen trockenes Mischfutter (Alleinfutter) aus Futterautomaten *ad libitum*. Wasser aus Einzeltränken stand den Tieren ständig zur Verfügung. Jede Box war mit einer automatischen Tränke und einem Futterautomaten mit zwei Fressplätzen versehen. Im Versuch wurden 19 Ferkel je Box (1,2 m^2 je Tier) gehalten. Der Betonboden der Boxen war mit Sägemehl eingestreut. Stalltemperaturen betrugen im Mittel 18-20 °C; relative Luftfeuchtigkeit lag im Mittel bei 70%. Weitere Parameter des Stallklimas wurden nicht kontrolliert.

Die Futtermischungen wurden im Betrieb aus zugekauften Futtermitteln (Getreide und andere Rohstoffe aus Pflanzenbaubetrieben) hergestellt. Um bedarfsgerechte Versorgung der Tiere zu gewährleisten, kam das Mineralfuttermittel „Schaumalac F60" der Firma „Schaumann" zum Einsatz.

Kontrolltiere bekamen Mischfutter mit einem tierischen Eiweißfuttermittel als Komponente (Fischmehl), im Mischfutter der Versuchsgruppe wurde Fischmehl durch HP-Sojaproteinkonzentrat ausgetauscht. Über Zusammensetzung und Inhaltsstoffe der verwendeten Futtermischungen gibt Tabelle 1 Auskunft.

Tabelle 1. Zusammensetzung und Inhaltsstoffe der eingesetzten Futtermischungen

Komponenten	Gruppe I	Gruppe II
Weizen %	43,0	40,5
Gerste %	20,0	20,0
Mais %	8,0	8,0
Sojaextraktionsschrot %	3,0	4,5
Fischmehl %	10,0	-
HP 300 Hamlet Protein %	-	10,0
Molke %	7,0	7,0
Lyprot SG 9%	2,0	3,0
Canolaöl %	3,0	3,0
Mineralfuttermittel Schaumalac F60 %*	4,0	4,0
Analytische Daten, 1 kg:		
Umsetzbare Energie MJ	13,99	13,63
Rohprotein %	18,22	17,36
Calcium %	1,26	0,77
Phosphor %	0,80	0,57
Lysin %	1,40	1,33
Methionin+Cystin %	0,89	0,86
Threonin %	0,81	0,75
Tryptophan %	0,22	0,22

* Mineralfuttermittel Schaumalac F60 enthält per 1 kg: Vit. A – 350000 IE, Vit. D_3 – 50000 IE, Vit. E – 3500 mg, Vit. K_3 – 100 mg, Vit. B_1 – 70 mg, Vit. B_2 – 180 mg, Panthotensäure– 500 mg, Niacin – 900 mg, Cholinchlorid – 10000 mg, Vit. B_6 – 120 mg, Vit. B_{12} – 1,2 mg, Biotin – 4 mg, Folsäure – 40 mg, Vit. C – 2000 mg, Eisen – 5000 mg, Kupfer – 4000 mg, Zink – 3000 mg, Mangan – 2000 mg, Iod – 50 mg, Selen – 11 mg, Cobalt – 25 mg, Phytase – 12500 FTU, Bonvital *Enterococcus faecium* – 25×10^9 KBE.

Berechung der Mischfutterzusammensetzung erfolgte mit dem Software-Programm „Recept". Seine Futtermitteldatenbank basiert auf Nährstoffwerten der Fachliteratur (NRC, 1998). Umsetzbare Energie wurde nach Jeroch et al. (2004) berechnet. Bei der Analytik der Nährstoffgehalte im Mischfutter kamen in der EU gültige Methoden zur Anwendung (Naumann et al., 1976; Pašarų tyrimo metodai/Methoden der Futtermitteluntersuchung, 2003).

Die Körpermasse der Tiere wurde zu Versuchsbeginn, nach 27 Tagen und am Versuchsende durch Einzeltierwägung erfasst. Durch Einwaage des Futters in die Automaten und Rückwaage der Futterreste an den Wägetagen ergab sich der Futterverzehr der Gruppen.

Um den Gesundheitsstatus der Ferkel beurteilen zu können, erfolgte mikrobiologische Untersuchung von Fäkalien. Zusätzlich wurden die Tiere täglich beobachtet. Fäkalienproben in der Kontroll- und Versuchsgruppe wurden zu Versuchsbeginn, im Laufe des Versuches (nach 27 Tagen) und am Versuchsende entnommen. Im Rahmen der Fäkalienuntersuchung wurde die Gesamtkeimzahl erfasst. Es wurde jeweils 1 g Exkremente eingewogen und im Verhältnis 1:99 in einer physiologischen Lösung suspendiert. Auf die Weise wurde die primäre Verdünnung im Verhältnis 1:100 gewonnen, die anschließend im Verhältnis 1:9 auf 10^{-7} verdünnt wurde. Anschließend wurde je 0,05 ml aus der Verdünnungsstufe 10^{-4} auf Nährgel in Petrischalen gegeben. Versuchsproben wurden in je drei Petrischalen mit Mac Conkey-Boullion 24 Stunden bei +37 ^{o}C unter aeroben Bedingungen bebrütet. Kolonienbildende Einheiten (KBE/g) wurden nach LST ISO 7218:2000 ermittelt und logarithmisch ausgedrückt.

Mit Ausnahme der Inhaltsstoffe der Futtermischungen und des Futteraufwands wurden alle Versuchsdaten statistisch ausgewertet (t-Test), wobei das Signifikanzniveau von 0,05 vorgegeben wurde (Juozaitienė und Kerzienė, 2001). Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit den Programmen „Origin 5.0" und „Microsoft Excel".

Ergebnisse

Der Fütterungsversuch verlief ohne Komplikationen. In beiden Gruppen sind keine Gesundheitsstörungen aufgetreten.

Daten zum Wachstumsverlauf der Ferkel sind in der Tabelle 2 ausgewiesen. Zusatz von Sojaproteinkonzentrat führte schon im 1. Versuchsabschnitt zu einer 20 g bzw. 5,6 % ($p>0,05$) höherer Tageszunahme gegenüber der Kontrolle.

Im zweiten Versuchsabschnitt wuchsen die Tiere der Gruppe II noch schneller, sie erreichten eine 133 g bzw. 30 % höhere Tageszunahme ($p<0,05$) gegenüber den Kontrolltieren.

In der gesamten Prüfperiode war die mittlere Tageszunahme in der Gruppe II (ohne Fischmehl) um 69 g bzw. 18,4 % höher ($p>0,05$) im Vergleich zur Gruppe I. Einsatz von HP-Sojaproteinkonzentrat anstelle von Fischmehl ergab somit einen positiven Effekt.

Der Futterverzehr in der Gruppe II ist angestiegen (entsprechend 7% und 31% im 1. und 2. Versuchsabschnitt) (Tabelle 3). In der gesamten Prüfperiode war Futterverzehr in der Versuchsgruppe um 173 g bzw. 17% höher gegenüber der Kontrolle.

Tabelle 2. Wachstumsparameter

PARAMETER	Gruppe I			Gruppe II		
	$\overline{X}$	SD	SE	$\overline{X}$	SD	SE
Mittleres Gewicht zu Prüfbeginn, kg	9,49	3,43	0,77	9,51	3,43	0,77
Mittleres Gewicht nach 27 Tagen, kg	19,62	5,99	1,38	19,87	7,57	1,74
Mittleres Gewicht am Prüfende, kg	25,82	7,14	1,64	27,94	10,2	2,35
Tageszunahme im 1. Versuchsabschnitt, g	358,6	132,4	29,6	378,6	163,4	37,5
Tageszunahme im 2. Versuchsabschnitt, g	442,9	168,6	38,7	576,2*	221,4	50,8
Tageszunahme in der gesamten Prüfperiode, g	376,7	142,1	31,8	446,1	174,5	40,0

*p<0,05 (signifikanter Unterschied gegenüber der Gruppe I)

Tabelle 3. Futterverzehr kg je Tier und Tag

	Gruppe I	Gruppe II
1. Versuchsabschnitt	0,563	0,600
2. Versuchsabschnitt	0,846	1,109
Gesamte Prüfperiode	0,660	0,774

Verbrauch an Futter je kg Zuwachs (Futteraufwand) ist in der Tabelle 4 ausgewiesen. Austausch von Fischmehl durch HP-Sojaproteinkonzentrat hatte keinen signifikanten Einfluss auf diesen Parameter im 1. Prüfabschnitt. Im 2. Prüfabschnitt benötigten die Tiere der Versuchsgruppe 4 % weniger Futter je kg Zuwachs im Vergleich mit den Kontrolltieren. In der gesamten Prüfperiode wiesen jedoch beide Gruppen keine signifikanten Unterschiede im Futteraufwand auf.

Tabelle 4. Futterverbrauch je kg Zuwachs (kg)

	Gruppe I	Gruppe II
1. Versuchsabschnitt	1,60	1,59
2. Versuchsabschnitt	2,01	1,92
Gesamte Prüfperiode	1,76	1,74

Über Entwicklung der Gesamtkeimzahl in Fäkalien informiert Tabelle 5. Zu Prüfbeginn war die Gesamtkeimzahl in der Gruppe II um 5 % höher gegenüber der Kontrolle. Die gleiche Tendenz blieb auch am Prüfende erhalten, d.h. eine 5 % höhere GKZ in der Versuchsgruppe. Nach 27 Tagen wurde dagegen ein leichter Anstieg der Gesamtkeimzahl in der Gruppe I ermittelt (5% höher als in der Gruppe II und 3% höher als zu Prüfbeginn). Fischmehl hatte demzufolge einen positiven Effekt auf Gesamtkeimzahl in Fäkalien.

Tabelle 5. Gesamtkeimzahl in Fäkalien (TBC log)

	$\overline{X}$	SD	SE	$\overline{X}$	SD	SE
Versuchbeginn	5,80	0,32	0,15	6,07	0,10	0,05
Nach 27 Tagen	5,96	0,40	0,20	5,64	0,63	0,31
Versuchsende	5,09	0,80	0,36	5,33	0,85	0,38

Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung von Fäkalienproben zeigen, dass Gesamtkeimzahl in der Gruppe II kontinuierlich abgenommen hat und nach 27 Tagen bzw. am Versuchsende um 7% bzw. 12% niedriger war als zu Versuchsbeginn. Im Unterschied zu der graduellen Abnahme in der Versuchsgruppe nahm die GKZ in der Kontrolle ab dem 2. Abschnitt sofort ab und war am Versuchsende um 12% niedriger als zu Versuchsbeginn.

Diskussion der Ergebnisse

Austausch von Fischmehl durch pflanzliche Futtermittel im Starterfutter für Absetzferkel wird aus ökonomischer und physiologischer Sicht diskutiert. In letzteren Jahren wird diese Diskussion durch Anforderungen der Futtermittelsicherheit angeregt, da im Fischmehl infolge mangelhafter Herstellungs-, Transport- und Lagerungsbedingungen häufig pathogene Keime wie *Escherichia coli, Clostridium perfringens* nachgewiesen werden. Deshalb wird nach anderen Lösungen gesucht. Alternativ zum Fischmehl im Starterfutter für Absetzferkel kann man Kartoffeleiweiß (Kasper, 1998; Kerr et al., 1998), HP-Sojaproteinkonzentrat (Philpotts und Norton, 2003) und andere Futtermittel verwenden, ohne Leistungen von Ferkeln zu verschlechtern (Oelmühlen e.V., 2003).

HP-Sojaproteinkonzentrat weist einen hohen Rohproteingehalt (min. 48%) sowie einen geringen Rohfasergehalt (max. 3,5%) und feine Struktur auf (Lindermayer, 2004). Deshalb wird solches Futter von Ferkeln gern gefressen. Bei Fütterung mit wirtschaftseigenen Futtermischungen entfällt das zusätzliche Mahlen, da eine gleichmäßige Vermischung mit anderen Mischungskomponenten auch ohne dies möglich ist. Des Weiteren sind Getreidepreise infolge der EU-Agrarreform stark gesunken. Deshalb sind Schweinehalter, die selbst Futtermischungen herstellen, daran interessiert, möglichst hohe Getreideanteile in Mischfutter zu erreichen. Durch Einsatz des HP-Sojaproteinkonzentrats wird Erhöhung des Getreideanteils in Futtermischungen möglich, Rohfasergehalt wird um 0,7 % herabgesetzt, Energiedichte dagegen um 0,3 MJ ME erhöht (Oelmühlen e.V., 2003). Mit zunehmendem Rohfasergehalt in der Futtermischung nimmt die Energiekonzentration ab. Infolgedessen kann es zu reduzierten Tageszunahmen und Verschlechterung der Futterverwertung kommen. Alleinfuttermittel für Ferkel sollen maximal 4-5 % Rohfaser enthalten.

In unserem Versuch wurde die Möglichkeit, Fischmehl durch den Sojaproteinkonzentrat „HP 300" auszutauschen, geprüft. In wie weit ist Austausch dieser Art sinnvoll? Kelly et al. (1990), Miller et al. (1986) betonen, dass Futterumstellung in der Absetzphase morphologische Veränderungen der Darmschleimhaut verursacht, wobei Darmzottenhöhe vermindert und Kryptentiefe erhöht werden. Diese resultieren in Verdauungs- und Absorptionsstörungen. In der Absetzphase wirken verschiedene Stressfaktoren zusammen, so dass der Ferkelernährung eine besonders wichtige Rolle zukommt (Hall et al., 1989). Versuchsergebnisse zeigen einen positiven Effekt des Sojaproteinkonzentrats „HP 300" auf die Wachstumsleistung der Absetzferkel und Futteraufwand. Zu betonen sind höhere Verzehrsmengen an Starterfutter mit HP-Sojaproteinkonzentrat, wodurch eine bessere Versorgung der Tiere mit Energie und Nährstoffen ermöglicht wurde, obwohl Fressunlust eine häufige Folge von Absetzstress ist. Tiere der Gruppe II nahmen im Mittel 173 g mehr Futter im Vergleich mit den

Kontrolltieren auf. Höherer Verzehr resultierte in 18 % höherer Tageszunahme. Der positive Effekt des HP-Sojaproteinkonzentrats auf Futterverzehr wird von anderen Forschern bestätigt (Philpotts et al., 2003). Versuchsergebnisse der Firma „Hamlet Protein" aus den Jahren 2002, 2003, 2004 zeigen ebenfalls einen positiven Effekt des Einsatzes von Sojaprotein „HP 300" anstelle von Fischmehl im Starterfutter für Absetzferkel. Unsere Ergebnisse bestätigen somit die Annahme, dass Fischmehl im Alleinfutter für Absetzferkel durch andere Futtermittel ausgetauscht werden kann, ohne Ferkelleistungen zu beeinträchtigen. Signifikanter Unterschied der Tageszunahmen zwischen den Gruppen im 2. Prüfabschnitt (30 %) kann dadurch erklärt werden, dass durch Einsatz von HP-Sojaproteinkonzentrat nachteilige Schwankungen der GKZ im Darm vermieden werden konnten. Darmflora stabilisierende Wirkung reichte aus, um Resistenz gegen pathogene Keime zu stärken. Bessere Leistungsparameter der Ferkel der Gruppe II sind u. E. auf ihren physiologischen Zustand zurückzuführen.

Austausch von Fischmehl durch ein billigeres Futtermittel ermöglicht Kostensenkung in der Schweineproduktion. Versuchsergebnisse zeigen, dass sich mit HP-Sojaproteinkonzentrat 0,8 Eurocent je kg Zunahme sparen lässt. Einsatz dieses Produktes ist jedoch nur dann ökonomisch, wenn Marktpreis von Fischmehl wenigstens um 5 % höher als der von „HP 300" ist. Austausch von Fischmehl durch „HP 300" im Starterfutter für Absetzferkel wirkt sich positiv auf Ferkelgesundheit aus und ermöglicht sicheres Mischfutter sowie sichere Schweineproduktion.

Literatur

Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung e. V. (AWT) (2004): Probiotics in animal nutrition. Agrimedia GmbH, 38 S.

Asahara T., Nomoto K., Watanuki M. et al. Antimicrobial Activity of Intraurethrally Administered Probiotic Lactobacillus casei in a Murine Model of Escherichia coli Urinary Tract Infection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2001. Vol. 45. N. 6. P. 1751–1760.

Bertschinger H.U., Fairbrother J.M. (1999): Diseases in Swine, 8 th edition, Blackwell Science Ltd., Oxford, pp 431-468

Canh T.T., Aarnink A.J.A., Verstegen M.W.A., Schrama J.W. (1998): Influence of dietary factors on the pH and ammonia emission of slurry from growing-finishing pigs. J. Anim. Sci. 76 (4) 1123-1130

Denis O.K., Robert A.E., bryan A.W., Roderick I.M., (1995): Effect of Weaning Diet the Ecology of Adherent Lactobacilli in the gastrointestinal tract of the Pig. J. of Animal Sci. 73 (8)., 2347-2354

Etheridge R.D., Seerley R.W., Huber T.L. (1984): The effect of diet on fecal moisture, osmolarity of fecal extracts, products of bacterial fermentation and loss of minerals in feces of weaned pigs. J. Anim. Sci. 58:1430

Freitag, M., Hensche, H.-U., Schulte-Sienbeck, H., Reichelt, B. (1998): Kritische Betrachtung des Einsatzes von Leistungsförderern in der Tierernährung. Forschungsbericht des Fachbereiches Agrarwirtschaft Soest, Universität-Gesamthochschule Paderborn, 199 S.

Hall G. A., Byrne T. F. Effects of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic piglets. Res. in Vet. Sci. 1989. Vol. 47. P. 387 – 392.

Hamidreza R., Werner S. (2005): Great successes in the lowering of pH value in the small intestine of monogastric animals by using natural feed additives and lowering the macro elements. Tagungsband 4. Boku-Symposium, 114-119

Hamlet Protein Feeding Trial Report No P26S 2002. To examine the effects of weaning diets without fish meal. Farmer J. Rasmussen. Lundmosegaard, Denmark.

Hamlet Protein Feeding Trial Report No P27S 2003. Weaning diets without fish meal. Farmer J. Rasmussen. Lundmosegaard, Denmark

Hamlet Protein Feeding Trial Report No P32 2004. Weaning recipes with reduced fish meal content. Farmer J. Rasmussen. Lundmosegaard, Denmark

HP Sojaschrot - Hochkonzentriertes Eiweißkraftfutter. Broschüre des Verbands Deutscher Oelmühlen e.V. Berlin. 2003. S. 1-20

Ishibashi N. and Yamazaki S. Probiotics and safety. American Journal of Clinical Nutrition.2001. Vol. 73. N. 2. P. 465–470.

Jeroch H., Drochner W., Simon O. Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Stuttgart 1999. 544 S.

Jeroch H., Šeškevičienė J., Kulpys J. (2004): Žemės ūkio gyvulių ir paukščių mitybos fiziologinės reikmės. Kaunas. 160 p.

Juozaitienė V., Kerzienė S. (2001): Biometrija ir kompiuterinė duomenų analizė. Kaunas. 114 p.

Kasper H. (1998): Protection against gastrointestinal diseases – present facts and future developments. Int. J. Food Microbiol., 41, 127-131

Kelly D., Smyth J. A., McCracken K. J. Effect of creep feeding on structural and functional changes of the gut of early weaned pigs. Res. in Vet. Sci. 1990. Vol. 48. P. 350 – 356.

Kerr C.A., Goodband R.D., Smith J.W., Musser R.E., Bergström J.R., Nessmith W.B., Tokach J.M.D., Nelssen J.L. (1998): Evalution of potato proteins on the growth performance of early-weaned pigs. J. Anim. Sci. 76 (12) 3024-3033

Kroismayr A., Sehm J., Mayer H., Schreiner M., Foiby H., Wetscherek W., Windisch W. (2005): Effect of essential oils or Avilamycin on microbial, histological and molecular-biological parameters of gut health in weaned piglets. Tagungsband 4. Boku-Symposium, 140-146

Lindermayer H., Propstmeier G. Ferkelfütterung. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), 2004 50 s.

Lindermayer H., Propstmeier G., Ltf-ITE2 (2005): Überprüfung der Sojaqualitäten. LFL tierernährung. 1-4

Lovatto P. A., Oliveira V., Hauptli L., Hauschild L., Cazarre M. Feeding of piglets in post weaning with diets without microbian additives, with garlic or colistin. Ciencia Rural. 2005. Vol. 35, N. 3. P. 656–659.

LST ISO 7218: 2000. Maisto ir pašarų mikrobiologija. Mikrobiologiniai tyrimai. Bendrosios taisyklės.

Mathew A.G., Chattin S.E., Robbins C.M., Golden D.A. (1987): Effects of the direct-fed Yeast culture on enteric microbial population, fermentation acids, and performance of weanling pigs. J. Anim. Sci. 76 (8) 2138-2145

Miller B. G., James P. S., Smith M. W., Bourne F. J. Effect of weaning on the capacity of pig intestinal villi to digest and absorb nutrients. J. agric. Sci., Camb. 1986. Vol. 107. P. 579 – 589.

Moore W.E.C., More L.V.H., Cato E.P., Wilkins T.D., Kornegay E.T. (1987): Effect of hight-fiber and high-oil diets on the fecal flora of swine. Appl. Environ. Microbiol. 53:1638

Mosenthin R. (2002): Probiotika im Praxiseinsatz in der Schweinefütterung. Journal Rekasan. Ratgeber für Tierernährung, Tierzucht und Management. Heft 17/18, 9. Jahrgang, 109-111.

Naumann C., Bassler R., Seibold R., Barth C. (1976): Methodenbuch Bd. III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

NRC (U.S.) (1998): Nutrient Requirements of Swine. 10th rev. Ed. National Academy Press, Washington, D. C..

Ohya T., Akiba M., Ito H. Use of a trial probiotic product in calves experimentally infected with Escherichia coli O157. JARQ. 2001. Vol. 35. N. 3. P. 189–194.

Pašarų tyrimo metodai (2003): Normatyvinių aktų rinkinys. Vilnius. 304 p.

Philpotts A., Norton C. (2003): A comparision of Hamlet protein HP 300 to skim milk powder and fishmeal in commercial diets for newly weaned pigs.Hamlet Protein feeding trial report No P 29. QAF Meat Industries Ltd., Australia.

Rolfe R. D. The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. Journal of Nutrition. 2000. Vol. 130. N. 2. P. 396–402.

Roth F.X., Ette T. (2005): Organische Säuren: Alternative zu antibiotischen Leistungsförderern. Tagusband 4. Boku-Symposium, 28-33

Simon, O. (2001): Probiotika aus der Sicht der Tierernährung. Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 8. Symposium 26. und 27. September 2001, Jena/Thüringen, S. 118-127.

Tsiloyiannis V.K., Kyriakis S.C., Vlemmas J., Sarris K. (2001): The effect of organic acids on the control of porcine postweaning diarrhoes. Res. Vet. Svi. 70: 287-293

Ulbrich M., Hoffmann M., Drochner W. Fütterung und Tiergesundheit. Stuttgart 2004. 416 S.

Danksagung

Sigita Stankevičiene (Technische Universität Kaunas, Litauen) sei für die Übersetzung des Beitrags herzlich gedankt.

Autorenanschrift

Rolandas Stankevičius
Abteilung für Tierernährung
Litauische Veterinärmedizinische Akademie
Tilžės 18, 47181 Kaunas
Litauen
e-Mail: rolandas@lva.lt

Vergleich der ME-Aufnahme mit den Empfehlungen bei der Aufzucht männlicher Fleckviehkälber bis etwa 200 kg Lebendgewicht

Karl Rutzmoser, Wolfgang Preißinger, Anton Obermaier

Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub

Einleitung

Der Energiebedarf von Aufzuchtkälbern (in MJ ME, je Tag) wurde faktoriell abgeleitet (GfE 1997). Da die Empfehlungen für Mastbullen überprüft werden sollen, bietet es sich an, auch bei Aufzuchtkälbern anhand des vorliegenden Datenmaterials aus Fütterungsversuchen die gemessenen ME-Aufnahmen mit den Empfehlungen zu vergleichen.

Ableitung des Bedarfes

Bei der faktoriellen Ableitung wird der Bedarf aus der Summe von Erhaltungsbedarf und dem Ansatz an Energie für Protein und Fett im Zuwachs berechnet. Der Erhaltungsbedarf ist auf das metabolische Lebendgewicht W in kg bezogen:

0,53 * W**0,75 (exp).

Zur Verwertung der ME für den Ansatz wird für Protein und Fett ein mittlerer Wirkungsgrad von 0,4 unterstellt (Faktor = 2,5), gleich wie bei Mastbullen. Der tägliche Ansatz an Protein und Fett errechnet sich aus Zunahme je Tag mal dem Anteil am Zuwachs (Zunahme g / 1000 * Protein bzw. Fett g / kg Zuwachs). Mit dem betreffenden Energiegehalt (Protein 0,0226 MJ je g, Fett 0,039 MJ je g) und den Zuwachswerten ergeben sich folgende Formeln für den ME-Teilbedarf:

ME Protein: Zunahme * Proteinanteil * 0,0226 * 2,5

ME Fett: Zunahme * Fettanteil * 0,039 * 2,5

Beim Zuwachs wird ein konstanter Proteinanteil von 188 g/kg im Leerkörper unterstellt, der Fettanteil nach Gewicht und Zunahmehöhe angepasst.

Leistungszunahme und Fettanteil

Bei einer gegebenen ME-Aufnahme je Tag läßt sich nach Abzug des Erhaltungsbedarfes der Leistungsanteil (ME für Zunahme) errechnen. Wird die Zunahme (g je Tag) durch diese ME für die Leistung geteilt, ergibt sich die Zunahme je Leistungs-ME.

Zunahme je Leistungs-ME = Zunahme / (ME Tag – ME Erhaltung)

Mit den Faktoren der Bedarfsableitung kann weiter auf den Fettanteil am Zuwachs rückgeschlossen werden. Wird von der ME-Tagesmenge der Erhaltungsbedarf und die Energie für den Proteinansatz abgezogen, verbleibt die Energie für den Fettansatz. Dabei kann von 175 g Protein je kg Zuwachs ausgegangen werden.

ME für Fettansatz = ME Tag – ME Erhaltung – Zunahme * 175 * 0,0226 * 2,5

Wird die ME für Fettansatz auf 1 kg Tageszunahme bezogen und durch die Faktoren für Energie im Fett und Verwertung geteilt, ergibt sich der rechnerische Anteil an Fett in g je kg Zuwachs:

Fettanteil = ME für Fettansatz / Zunahme g * 1000 / 0,0226 / 2,5

Die Leistungszunahme und der rechnerische Fettanteil kann aus der gemessenen ME-Aufnahme ermittelt und mit den entsprechenden Werten der empfohlenen Zufuhr verglichen werden.

Daten der Fütterungsversuche

Für die Auswertungen wurden die Ergebnisse von 5 Fütterungsversuchen, durchgeführt an der Landesanstalt in Grub verwendet. Versuche zur Mast mit Milchaustauschern (3 Versuche) wurden nicht einbezogen. Die Aufzuchtversuche mit männlichen Fleckviehkälbern begannen mit etwa 75 kg und dauerten meist 14 bis 16 Wochen. Die Tiere erreichten dann etwa 200 kg Lebendgewicht bei durchschnittlich 1148 g Zunahmen je Tag. Ein Versuch endete nach 11 Wochen mit rund 160 kg.

In jedem Versuch standen 2 Gruppen mit je 21 Kälbern, die Tierwiegungen erfolgten wöchentlich. Der Milchaustauscher wurde bis zu einem Lebendgewicht von etwa 120 kg mit einer Abrufstation verabreicht, je nach Versuch auch Kraftfutter tierbezogen zugeteilt. Grundfutter (Heu, Maissilagen) und zum Teil Kraftfutter (als Mischration) wurden gruppenweise zugewogen. Deshalb gehen die Auswertungen von Mittenwerten je Gruppe und Woche aus. Aus den festgestellten Futtermengen und deren Gehalte wurden die Aufnahmen an Trockenmasse, Rohprotein und ME insgesamt und aus Milchaustauscher errechnet.

Ergebnisse

Die Werte der Fütterungsgruppen wurden nach dem mittleren Gewicht in Klassen von 20 kg-Schritten eingeteilt und die Mittenwerte in den Klassen errechnet. In der folgenden Tabelle 1 ist zu Gewicht (kg) und Zunahme (g/Tag) die Aufnahme an ME (MJ je Tag) sowie die ME-Aufnahme aus Milchaustauscher (MAT, MJ je Tag) in den Gewichtsklassen aufgeführt. Weiter sind die Empfehlungen der ME-Zufuhr für die erbrachte Leistung und der Erhaltungsbedarf angegeben.

Tabelle 1: ME-Aufnahme (und aus MAT), Empfehlung und Erhaltungsbedarf nach Gewicht

Gew.-klasse	Anzahl Gruppen	mittleres Gewicht	Tages-zunahme	ME Aufn.	ME Empf.	ME Erhalt.	ME MAT
80	26	84	557	13,6	23,5	14,8	10,9
100	28	98	887	22,4	31,6	16,6	10,5
120	27	119	1185	33,0	40,8	19,1	5,0
140	21	141	1446	44,8	50,2	21,7	0
160	20	161	1349	51,3	49,7	23,9	0
180	14	181	1549	56,8	57,6	26,2	0
200	6	195	1581	61,0	60,0	27,7	0

Es fällt auf, dass im niedrigeren Gewichtsbereich bis 140 kg erheblich weniger Energie aufgenommen wurde, als aus den Empfehlung abzuleiten ist. In der Klasse von 80 kg Gewicht ist die ME-Aufnahme sogar unter dem Erhaltungsbedarf, obwohl Zunahmen von über 500 g erreicht wurden. Ab den Klassen von 160 kg Gewicht aufwärts stimmen Aufnahme und Empfehlung recht gut überein.

Folgerungen

In Anbetracht der physiologischen Gesetzmäßigkeiten muss von einer deutlich besseren Energieausnutzung bei den jüngeren Kälbern ausgegangen werden. Bei jungen Tieren geht man aufgrund der Bewegungsaktivitäten von tendenziell eher höheren Werten des Erhaltungsbedarfes aus. Jedoch sind bei Mastkälbern nach Kirchgessner (2004) 0,460 MJ/W**0,75 (exp) anzusetzen, was für die 80-kg-Klasse einen Erhaltungsbedarf von 12,8 MJ/Tag ergibt. Soweit die Fütterung überwiegend aus Milchaustauscher und Kraftfutter besteht, gelten die Regeln einer monogastrischen Verdauung, welche gegenüber der Wiederkäuerverdauung geringere Verluste verursacht. Der Ansatz von Protein und Fett im Zuwachs wird bei Mastkälbern mit einem günstigeren Wirkungsgrad erreicht (Protein 0,45, Fett 0,85) als bei Mastbullen (0,4). Hier wirken wohl Effekte der höheren Proteinwertigkeit wie auch der Verdauung von Kohlenhydraten beim Monogaster mit geringen Anteilen aus flüchtigen Fettsäuren. Bei den hier nicht weiter ausgeführten Versuchen zur Kälbermast mit Milchaustauschern wurden durchgängig um etwa 10 MJ ME je Tag weniger aufgenommen als nach der Bedarfsableitung für Aufzuchtkälber anzusetzen sind.

Die oben aufgeführten Berechnungen zu Leistungszunahme und Fettanteil können erst angewendet werden, wenn die Verdauung und Energieverwertung als Wiederkäuer geschieht. Das dürfte bei den ausgewerteten Versuchen ab 150 kg Lebendgewicht der Fall sein. Vorher passen die angesetzten

Wirkungsgrade nicht. In Tabelle 2 ist für die relevanten Gewichtsklassen die ME-Aufnahme und die Aufteilung in Erhaltung und Leistung (Protein- und Fettansatz) (MJ/Tag), die Zunahme (g) je MJ ME für Leistung und der rückgerechnete Fettanteil aufgeführt.

Tabelle 2: ME-Aufnahme und Aufteilung, Zunahme/Leistungs-ME und Fettanteil nach Gewicht in den oberen Gewichtsklassen

Gew.-klasse	ME Aufn.	ME Erhalt.	ME Leist.	ME Prot.	ME Fett	Zunahme /LeistME	Fett-anteil
140	44,8	21,7	23,1	14,3	8,8	64	71
160	51,3	23,9	27,3	13,3	14,0	50	110
180	56,8	26,2	30,7	15,3	15,3	51	114
200	61,0	27,7	33,4	15,6	17,7	48	127

Es zeigt sich, dass bei der verwendeten Funktion für den Erhaltungsbedarf im Gewichtsbereich um 150 kg etwa 50 bis 60 g Zunahme je ME für die Leistung erreicht werden, was einem rückgerechneten Fettanteil von 70 bis 110 g/kg Zuwachs entspricht. Aus den Auswertungen von Mastbullenversuchen deutet sich bei 200 kg Gewicht eine Leistungszunahme von 42 g/MJ ME entsprechend 140 g Fettanteil/kg Zuwachs an. Mit den gefundenen Werten wäre eine Anpassung mit einem gleitenden Übergang zu den Bedarfsableitungen von Mastbullen möglich.

Der hier abgeleitete Fettanteil am Zuwachs ist weniger als absolute Größe über den tatsächlichen Fettansatz zu werten als vielmehr eine gut vergleichbare Hilfsgröße im Vergleich von aufgenommener ME und erreichter Leistung. Zur Ableitung einer Richtwerttabelle eignet sich die Leistungszunahme recht gut, wenn diese aIs Verlaufsfunktion nach Gewicht beschrieben wird. Üblicherweise nimmt dieser Wert mit dem Gewicht ab, weil aufgrund des steigenden Fettanteils im Zuwachs je Leistungs-ME eine abnehmende Zunahmeleistung erreicht werden kann. Für den Bereich, in dem Aufzuchtkälber als Wiederkäuer angesehen werden können (hier ab 150 kg), stimmen die Bedarfsableitungen mit der gemessenen Aufnahme gut überein.

Werden Kälber überwiegend mit Milcherzeugnissen und Kraftfutter versorgt, so dass die Verdauungsvorgänge monogastrisch ablaufen, scheinen Anpassungen der vorliegenden Bedarfsableitung erforderlich. Die Energiebewertung der Futtermittel ist auf Wiederkäuer abgestimmt. Bessere Verwertungen werden folglich auf den Bedarf für Erhaltung und Leistung umzulegen sein.

Literatur

Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) (1995): Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere. Nr. 6 Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Mastrinder. DLG-Verlag Frankfurt (Main)

Kirchgeßner, M (2004): Tierernährung. 11. Auflage, DLG-Verlag Frankfurt (Main)

Mitteilungen des Ausschusses für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (1997): Empfehlungen zur Energieversorgung von Aufzuchtkälbern und Aufzuchtrindern. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 6, 201 – 212

Rutzmoser, K. (2007): Ableitung von Richtwerten der empfohlenen Aufnahme von Mastrindern aus der Auswertung Fütterungsversuche Mastbullen. Unveröffentlichtes Manuskript Grub.

Autorenanschrift

Dr. Karl Rutzmoser
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub
Prof.-Dürrwaechter-Pl. 3, 85586 Poing
Email: Karl.Rutzmoser@LfL.bayern.de

Influence of chemical additive supplementation on the chemical composition of lupine silage

P. Doležal, I. Vyskočil, L. Zeman

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno

Introduction

Lupine (*Lupinus,* L.) is presently an important non-traditional leguminous crop whose economic meaning is gaining importance worldwide. The genus *Lupinus* L. currently includes about 300 species, with the specially improved annual forms *Lupinus albus* and *Lupinus luteus* with their low alkaloid content being of the greatest significance. The lupine seeds, especially those of the foreign alkaloid-free species, are frequently used for their high protein concentration in the production of feed mixtures for monogastric animals throughout the world. The chemical composition and nutritive value of the seeds were paid great attention by research. The use of lupine was summarised in 1981 by DUKE and later by PETTERSON (2000). The previous study by MILFORD (1994) also indicated that white lupine (*Lupinus albus*) is one of potential feeds with high protein content. Many other studies confirmed the high nutritive value of lupine seeds, with the highest nutrient and fat content in legumes along with Soya (GILBERT, ACAMOVIC, 2000; CAMPOS–ANDRADA, SANTANA, FELGUEIRAS et al., 2000; RUIS-LOPEZ, GARCIA–LOPEZ CASTANEDA–VAZQUEZ et al., 2000) and others. In addition to seeds of high protein content (COSTA and REZIO, 2000), increased attention is currently paid also to the conservation and use of the whole plant. Lupine production for roughage is, according to JONES et al. (1999), as a rule characterized by high yields of dry matter (up to 9 t/ha). Lupine as roughage has usually low DM content and insufficient amount of water-soluble carbohydrates (WSC), and therefore, it must be wilted before the ensiling (JONES et al., 1999). Despite a higher content of nitrogen substances, the buffering capacity of the whole ensiled lupine plant is similar as that of some grass varieties, but significantly lower in comparison with other legumes. The issue of lupine conservation has been dealt with by a number of authors. Lupine silage and its mixtures with cereals and grasses were studied for example by EGOROV et al. (2001), CARRUTHERES et al. (2000), JANNASCH, MARTIN (1999), SERRANO (1989) and others. Silages prepared by them had a high content of digestible nitrogen substances and a very high fermentation quality. SERRANO (1989) even claims that silage made of *Lupinus luteus* had a high nutritive value and contained in kg of dry weight 32.8 % ADF, 15.6 % proteins and the digestibility of dry matter was 63.7 %. However, the dry matter content was low (ca. 21 %). VOYTEKHOVICH (2000) informs that it is also possible to successfully ensile *Lupinus angustifolius* and the silages had better nutritive values than silages prepared from white lupine. Many authors recommend the use of ensilaging agents for the lupine conservation. The effect of partial wilting and the addition of bacterial inoculants on fermentation characteristics were studied by JONES et al. (1999). They found out that by inoculating the ensiled lupine mass, significant acidification occurs along with protein decomposition, formation of ammonia and preservation of a higher WSC amount than in the control silage.

The aim of this study was to evaluate the effect of chemical additive on the nutritive value of lupine silage when ensiling lupine under exactly defined model conditions.

Material and methods

In the model experiment, yellow lupine (*Lupinus luteus*) was ensiled, variety Juno, which was harvested at a stage of wax ripeness of the seed by using the Kemper field chopper. The lupine stand was not fertilised during the vegetation period. Green matter yield was 3.68 t/ha at a dry matter content of 187.15 g/kg. The whole lupine plants were cut, shortly wilted and subsequently chopped during collection to a particle length greater than 30–50 mm. This model experiment used fresh crop lupine with 240.4 g/kg DM. The ensiled material was transported from the company Zichlinek to the laboratory of the Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy (MZLU Brno) and homogenised with experimental preservatives. One control (A) and two experimental variants (B and C) with preservatives (acids mixture) were used. The preservative was applied at a dose of 3 L/t and 6 L/t. This material was ensiled in three replications and stored in special experimental containers with content (volume) of 4 L at a temperature of 20–25 °C. After three months, the containers were opened and six representative samples were taken for the assessment of silage quality. All experimental samples were compared with the untreated control without addition of additive. Dry matter content was estimated by drying the samples to a constant weight at a temperature of 103±2 °C. The analytical procedures were described earlier AOAC, (1980), DOLEŽAL (2002). Results were statistically analysed using the method of factorial variance analysis.

Results and discussion

In the model experiment, yellow lupine was ensiled (*Lupinus luteus*), variety Juno. The whole lupine plant was harvested at a stage of wax ripeness of the seed. The chemical composition of the whole ensiled lupine plant differed from other leguminous crops. One kilogram of the original biomass dry weight contained 8.2 g of crude protein, 221.7 g of crude fibre, 290.4 g ADF, 410.9 g NDF, and 140.5 g of starch. Rumen degradability of crude protein was 60.18 %. The content of water-soluble carbohydrates was 31.5 g of 1 kg DM. Dry weight of the whole lupine plant was low and after one-day wilting its value increased only to 18.72 %, which is within the range recommended by JONES et al. (1999).

The proper course and quality of the fermentation process were mainly affected by the low content and composition of lupine dry weight and also by the addition of chemical agents. It is obvious that the content of water-soluble carbohydrates in the whole lupine plant during the specified vegetation stage before the harvest and conservation was insufficient (<5.80 g/kg of biomass) and in comparison with the sward it was too low. Therefore it is necessary to ensure efficient wilting of the biomass to higher dry weight content or to use adequate ensiling agents. The chemical composition of the control and treated model lupine silages from wilted forage are shown in table 1. The dry weight of model silages ranged from 187.99±0.68 g/kg in control silage up to 187.15±0.91 g/kg in experimental silage with a higher dose of the chemical additive. With the increasing dose of chemical agents, changes were observed in some indicators important in terms of nutritive value. In the treated lupine silages, the preserved crude protein content was much higher compared to the control silage, which indicates a more considerate conservation of proteins in the silage. The chemical conservation resulted in a reduced level of rumen degradability of protein in the silage in comparison with the control silage. This indicates that the more considerate protein conservation is in line with the results published by other authors (JONES et al., 1999 and others), who similarly increased the DM content of experimental silages by short-term wilting. The reduction in rumen degradability of CP by 4.42 relat. %, resp. 9.14% is significant with respect to rumen fermentation. The better conserving effect is also documented in the model silages by the occurrence of a higher content of PDI as compared to the control silages. The treated silages of lupine exhibited a higher content of crude fibre and ADF and NDF fractions than the control silage. JONES et al. (1999) detected insignificantly lower content of

ADF and NDF as compared to the control silages in the inoculated unwilted or wilted forages of lupine. A great advantage of treated lupine silages with respect to nutritive value is the preservation of a higher starch content, soluble sugar content and higher concentration of energy.

The different course of fermentation relates also to the extent of dry weight loss. The calculated values of DM losses due to the fermentation process correspond to the range and course of the fermentative process. The values indicate that the loss of dry weight depended on dry matter content and on the addition of the chemical additive. The addition of chemical preservative led to a reduced biomass loss (2.12 % resp. 1.62 %) as compared with the untreated control (7.89 %), resp. to a reduced dry weight loss to 5.38 %, resp. 1.62 % with the application of 6 L of the agent per 1 t. Dry matter loss in the untreated control silage amounted to about 9.83 %.

The mineral composition of the control and chemically treated lupine silages from wilted forage are shown in table 2. The results presented in tab. 2 show that lupine is relatively poor in P, which indicates a higher ratio between Ca:P. K is represented in high volumes and, on the contrary, Na concentrations are very low. The tetanic factor (K/Ca+Mg) in the silages from the whole lupine ranges from 1.88–1.92 and is higher than for example in alpha-alpha silages (1.55). These values are affected namely by a higher amount of K and by a lower Mg concentration.

Conclusions

The aim of this study was to evaluate the effect of a chemical preservative supplementation on the quality and nutritive value of lupine silage as compared with untreated controls. The relatively mean WSC content and the low buffering capacity of lupine crop provided for a good preservation with the chemical preservative.

The best nutritive value was found in silages with the supplement of acid mixtures dosed at 6 L/t since they showed not only a better content of net energy (NEL) and CP but also a significantly lower ethanol content, a more favourable RDP content and a higher starch content than the control. The supplement of preservatives resulted in the increased DM content in stored silage, in the increased escape of silage effluents and in the inhibited formation of butyric and propionic acids. The results indicate that the lupine silage, when made at a lower dry matter content, can be expected to exhibit an improved stability against aerobic deterioration.

Keywords: lupine silage, quality of silage, chemical composition

Acknowledgment

This study was supported by the Research plan No. MSM 6215648905 "*Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change*", which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Table 1: Chemical composition of lupine silane (in 1 kg of DM)

Groups / Characteristics		A	B	C
DM	(g/kg)	187,99±0,68	182.15±2.64	188.40±2.78
CP	%	20.27	21.73	20.53
RDP	%	69.91	66.82	63.52
Fat	%	2.03	2.20	2.15
CF	%	24.55	26.96	26.80
ADF	%	31.28	33.79	33.93
NDF	%	47.17	52.45	52.32
Ash	%	10.41	10.10	9.22
Starch	%	9.57	11.12	12.79
ME	MJ/kg DM	9.44	9.40	9.59
NEL	MJ/kg DM	5.56	5.51	5.59
PDIN	g/kg DM	107.98	109.56	108.25
PDIE	g/kg DM	76.32	76.71	76.44
WSC	%	0.21	0.95	1.19

A … Control; B … Kemsil 3 L/t; C …Kemsil 6 L/t; DM … Dry matter; CP … crude protein; CF … crude fibre; WSC … soluble suger content; RDP … rumen degradability of protein; ADF … acido-detergent of fibre; NDF … neutral-detergent of fibre;

Table 2: Mineral composition of lupine silane (in 1 kg of DM)

Groups / Characteristics		A	B	C
Ca	(g/kg)	9.35	8.92	8.47
P	(g/kg)	1.72	1.72	1.81
Ca/P		5.44	5.19	4.68
Na	(g/kg)	0.74	0.75	0.64
K	(g/kg)	22.32	22.02	19.72
Mg	(g/kg)	2.55	2.58	2.36
K/Na		30.16	29.36	30.81
TF		1.88	1.92	1.82

References

AOAC (Association of Official Analytical Chemists): Official Methods of Analysis. 13th ed., AOAC, 1980, Washington, DC, 1018.

CAMPOS-ANDRADA, M. P., SANTANA, F. M. C., FELGUEIRAS, I., MIMOSO, M. J., EMPIS, J. M. A.: Nutritional value of Lupinus angustifolius and. L. cosentinii accessions with diverse genetic origin. In Proceedings of the 9th International Lupin Conference, Germany, 20-24 June, 2000, 414–418.

CARRUTHERS, K., PRITHIVIRAJ, B., FE, Q., CLOUTIER, D., MARTIN, R. C., SMITH, D. L.: Intercropping of corn with soybean, lupin and forages: silage yield and quality. Journal of Agronomy and Crop Science, 185, 3, 2000, 177–185.

COSTA, M. L. B., REZIO, M. M.: Thermal characterization of lupin proteins a DSC study. In Proceedings of the 9th International Lupin Conference, Germany, 20-24 June, 2000, 467–469.

DOLEŽAL, P.: Vliv přídavku Lactobacillus plantarum DSM 12771 na kvalitu siláží silně zavadlé vojtěšky a trávy (Effect of supplements of Lactobacillus plantarum DSM 12771 on the quality of ensiled alfalfa and grass with a high content of dry matter). Acta univ. agric. et silvic Mend. Bruno, 2002, 5, s. 37–44.

DRIEHUIS, F., VAN WIKSELAAR, P. G.: The prevention of alcoholic fermentation in high dry matter grass silage. In Conference Proceedings, The XII th International Silage Conference, Uppsala Sweden, July 5–7, 1999, 133-134.

EGOROV, I. F., MYSKOV, N. P.: Silage from narrow–leaved lupin and its mixturres. Kormoproizvodstvo,5, 2001, 27 –28.

GILBERT, C., ACAMOVIC, T.: The nutritional value of two British grown cultivars of Lupinus albus for broiler chicken. In Proceedings of the 9th International Lupin Conference, Germany, 20-24 June, 2000, 400–402.

JANNASCH, R. W., MARTIN, R. C.: The potential for capturing the forage yield of white lupin by intercropping with cereals. Biological Agriculture and Horticulture, 17, 2, 1999, 113–130.

JONES, R., FYCHAN, R., EVANS, S., ROBERTS, J.: Effects of wilting and application of a bacterial inoculant on the fermentation characteristics of lupin silage. In Conference Proceedings, The XII th International Silage Conference, Uppsala Sweden, July 5–7, 1999, 98–99.

JURÁČEK, M.: Kvalita biologicky ošetrených kombinovaných kukuričnо–čirokových siláží. Dni výživy zvierat, Nitra, 2002, 19–20. september, s. 126–129.

MILFORD, G. F. J.: The use of a land suitability model to predict where autumn–sown, determinate genotypes of the white lupin (Lupinus albus) might be grown in England and Wales. Journal of Agricultural Science, 123, No 2, 1994, 199–205.

PETTERSON, D. S.: The use of lupins in feeding systems–review. Asian Australasian Journal of Animal Science, 13, 6, 2000, 861–882.

RUIZ–LOPEZ, M. A., GARCIA–LOPEZ, P. M., CASTANEDA–VAZQUEZ, H. et al.: Chemical composition and antinutrient content of three Lupinus species from Jalisco, Mexico. Journal of Food Composition and Analysis, 13, 3, 2000, 193–199.

SEIJA, J., TOIVONEN, V., HUHTANEN, P.: Effects of nitrogen fertilisation of grass on fermentation in untreated and formic acid treated silage. In Conference Proceedings, The XII th International Silage Conference, Uppsala Sweden, July 5–7, 1999, 164–165

SERRANO, J. E.: Chemical and nutritive values of three ensiled residues (broad beans, peas and soyabean), in comparison with vellow lupin silage. In Proceedings of the XVI International Grassland Congress, Nice, 1989, 983–984.

VOYTEKHOVICH, I.: Ensilage of narrow–leaved lupin. Vestsi Akademii Agrarnych Nauk Respubliki Belarus, 3, 2000, 46–49.

WIATRAK, P. J., WRIGHT, D. L., REEVES, D. W., PUDELKO, J. A., KIDD, B.: Influence of summer grass and legume crops on winter grown wheat and lupin. Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings, 55, 1996, 89–91.

Autorenanschrift

Prof. MVDr. Ing. Petr Doležal, CSc.
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno
Zemědělská 1
613 00 Brno
Czech Republic
e-mail: dolezal@mendelu.cz

The Evaluation of Additives Effect on Individual Growth of Animals Body Weight

Ludvík Novák[1], Ladislav Zeman[1], Pavel Novák[2]

[1]Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Czech Republic
[2]University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic

INTRODUCTION

The growth of husbandry animals is determined by the genotype constituted in embryo after fertilization of the egg. The fuse of the eggs nucleus with the nucleus of the spermatozoid triggers the interaction of the nuclear and cytoplasm structures. Result of these interactions is the self-developmental process, which during the intrauterine emergence of embryo results into the being of the particular animal. Various phenotypic sign represent the expression of the genotype under the actual conditions of the inner and outer environment. Body mass grows belongs to the general phenotypic signs classifying the animal to the biologic race, genetic line or certain combination of various genetic lines. There exist certain similarity between the general mathematic rules of the growth process and the body mass growth of animals. Common denominator in both processes is increment of the variable integration of which yields the growths curve. Using the concept of anabolic and catabolic processes formulated by Pütter (Pütter 1920) as physiologic basis of the growth processes, the method of Dynamic Phenotype of Body Mass (DPMG) was developed (Novák 2005, 2006) and applied to modeling of body mass growth in laboratory animals, husbandry animals and man (Novák et al. 2006, 2007). The method of Dynamic phenotype enables to visualize the expression of the individual's genotype to the phenotype in the form of the body mass growth curve. Dynamic of the body mass growth is under these conditions expressed by the three parameters of Dynamic phenotype they uniquely determine the course of the individuals body mass growth curve from the birth until the adulthood. These parameters are (G0) body mass at birth indicating begin of the growth curve, genetic limited maximum body mass (GLi) and the maximum body mass increment (dGmax) which coincides with the inflexion point of the growth curve. The mentioned three parameters of the Dynamic phenotype (G0, GLi, dGmax) format the growth curve from birth to the adulthood and also the pertinence of the animal's to certain species, race line or combination of various genetic lines (Novák et al. 2007).

Parameters of the Dynamic phenotype do express the body mass growth of the warm-blooded animal independent on the conditions of the inner and outer environment. Therefore the Dynamic phenotype method is combined with the biologic model of growth (Novák 1996, 2003,2004).

In this presentation we want to point the attention to the possibilities in using the combination of the Dynamic Phenotype Method of Growth (DPMG) and the Biologic Model of Growth (BMG) as a tool to objective description of condition they can be favorable to the positive effect of various types of the additives applied with the aim improve the increments of body mass.

Material and methods

The body mass growth in principle expresses the conversion of the net energy for production (NEP) to the energy deposited into the dry matter of proteins (dPRs) accompanied by deposition of minerals (dPOP) and water (dWater), further complemented by synthesis of lipids (dLPs) deposited into the fat depots. The amount of net energy for production required to the synthesis of proteins and lipids is the result of the difference between the amounts of metabolizable energy (MEIF) ingested in the feed and

absorbed during digestion and the total production of metabolic heat (THP). The cooling effect of the environment (CEE) should be in balance with the heat output to prevent the overheating or under cooling of the animals' body. Stressing factors (STX) present in the environment do increase the heat production an in this way diminish the amount of net energy (NEP) gained from the ingested metabolizable energy (MEIF) and in this way impair the body mass increase (dG). The Relations between individual components of the complex system are shown in Figure 1. Solution of the displayed relations is based on the dynamics of the body mass growth.

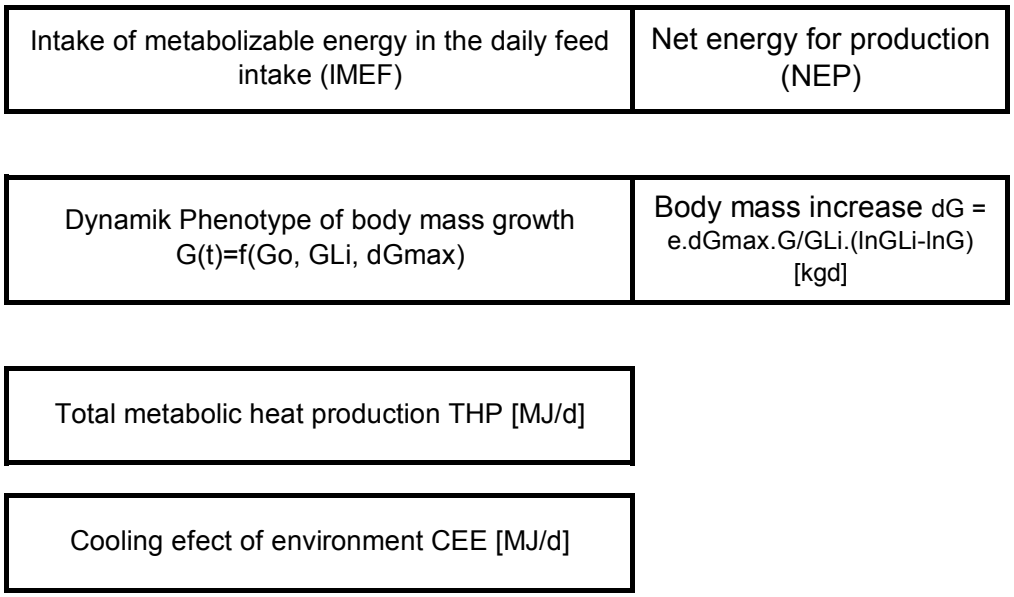


Figure 1. Block-scheme of relations between Dynamik Phenotype Method of Growth (DPMG), body mass increase (dG) and the partition of energy intake in the feed (IMEF) total metabolic heat production (THP), cooling effect of environment (CEE), net energy for production (NEP) and body mass increase (dG).

Dynamic phenotype parameters define the growth curve as a form of genotype expression in the form of body mass phenotypes expressed by the body mass growth curve. The sum of various stressing factors (STX) for instance the muscular movement changes in the cooling effect of the environment eventual diseases do increase the consumption of net energy (NE) on cost of the net energy for production (NEP) of protein and lipid synthesis deposited in the body mass increase. If the cooling effect of the environment (CEE) in that period is smaller than the amount of thermostatic heat produced, than the increase in the body temperature causes the decrease of daily feed-rations intake (DFR) and the amount of net energy for production (NEP) is once again diminished and followed by the decrease of body mass increment see Fig. 2

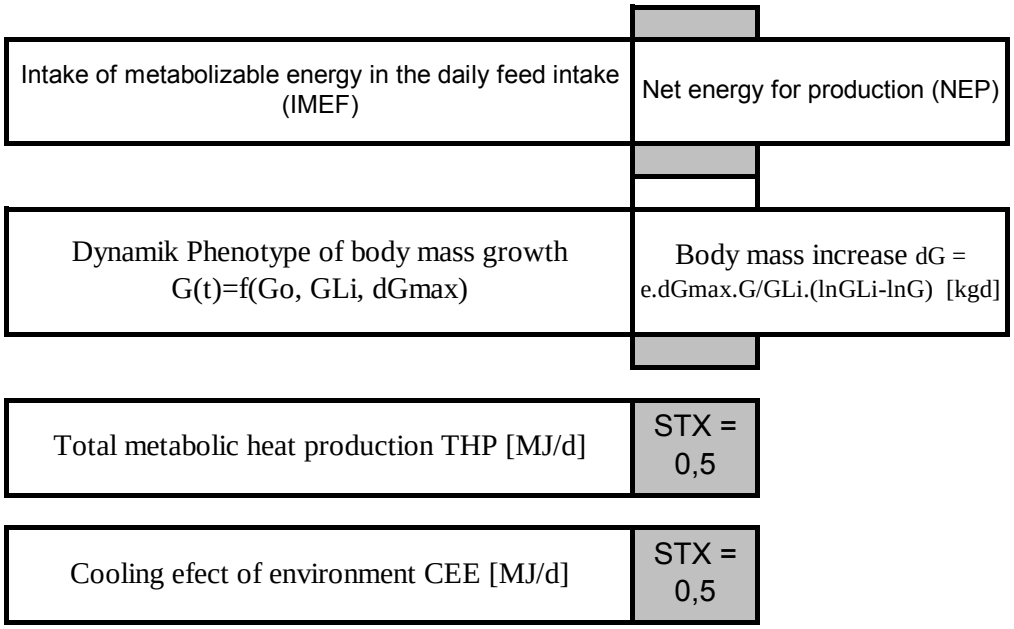


Figure 2. Block-scheme of relations between Dynamic Phenotype Method of Growth (DPMG), body mass increase (dG) and the partition of Metabolizable Energy Intake in the Feed (IMEF) under the effect of stressors (STX) on total metabolic heat production (THP) and relations of them to the Cooling Effect of Environment (CEE), Net Energy for Production (NEP) and body mass increment reduction.

Results and discussion

Projection of the stressors impact on the retardation of body mass increase velocity curve and on the body mass growth curve under various stressors impact on pigs with DPMG parameters: G0= 1,5 kg, GLi= 220 kg dGmax= 0,895 kg/day are presented in Figure 3, and 4. It is evident that results in Figure 3, under the impact of stressors less environment STX = 0,0 are quite different from results shown in Figure 4, under the impact of stressors with intensity STX = 0,5. Stressing environment in Figure 4, evoke depression of the body mass increase velocity of about 30% in comparison with the body mass increase velocity curve of the control animal in Figure 3. Similar depression is to be observed in the body mass growth curve. This indicates that any effort to increase effectively the body mass growth under these conditions by additives shall go in vane so long the animal will be not able to increase the bulk of the daily feed ration (DFR). In case the increase of DFR occurs, increase of the amount of metabolizable energy (IMEF) shall anticipate the appropriate increase in the cooling effect of the environment (CEE) to be rised adequately, other vice the hyperthermia of animals shall hamper the expected increase of the body mass increment, by new depression of DFR.

The relations between the amount of the maximum daily feed ration's intake (DFR), the reasonable appropriate amount of digestible proteins and the corresponding amount of proteins deposited in the growing body of pigs are shown in graphs of Figure 5, and Figure 6. Comparing Figure 5, with Figure 6, it is evident that if the body mass growth under the increased STX is diminished, also the amount of protein deposited in tissues of the body decreases. From this reason the amount of digestible protein can be lowered because other vice the surplus of digestible protein in comparison with the amount of proteins deposited in tissues shall be either degraded to metabolic heat in the case of increased energy consumption for maintenance to balance the cold stress (STX= 0,5). In such a case the cooling effect of environment (ECC) is greater than in the case when the STX= 0,0 and the energy for maintenance of the animal Figure 2, is balanced on cost of net energy for production (NEP). Wood be the DFR intake increased by the additives under optimal thermal conditions STX= 0,0 the deposition of surplus energy gained from the amount of proteins they were not used to deposition in tissues of the body, in this case the surplus energy will be changed to energy of lipids and deposited as energy to the fat depots.

The effort paid in the current husbandry practice to additives with the aim by the larger amount of daily feed rations consumed to reach the desired slaughter body mass faster in shorter fattening period is more complicated than a simple hope for better results in the body mass increments by larger amounts of DRF consumed (Wenk 2005). Sometime the results seems to be positive however the reason mast not be conditioned by the higher DRF intake because the changes in the growth velocities of husbandry animals are complex events represented by interaction of the fattened animals biology and physiology with the environmental conditions of their stabling. The results presented indicate that optimality of the relation between the husbandry animals and their stabling conditions is possible to express by the index STX representing the sum of stressing factors impact on the economy of kept animals. The detailed description of methods they are available to solution of the problem was demonstrated in previous presentations (Novák 2003. 2004, Novák et al. 2005, 2006).

Conclusion

The Dynamic Phenotype Method of Growth (DPMG) and the Biologic Model of Growth (BMG) seems to be a useful to objective description of condition they can be evaluated as favorable to the positive effect of various types of additives applied in the husbandry with the aim to improve increment of animals body mass and shorten the period of reaching the slaughtering body mass in shorter time

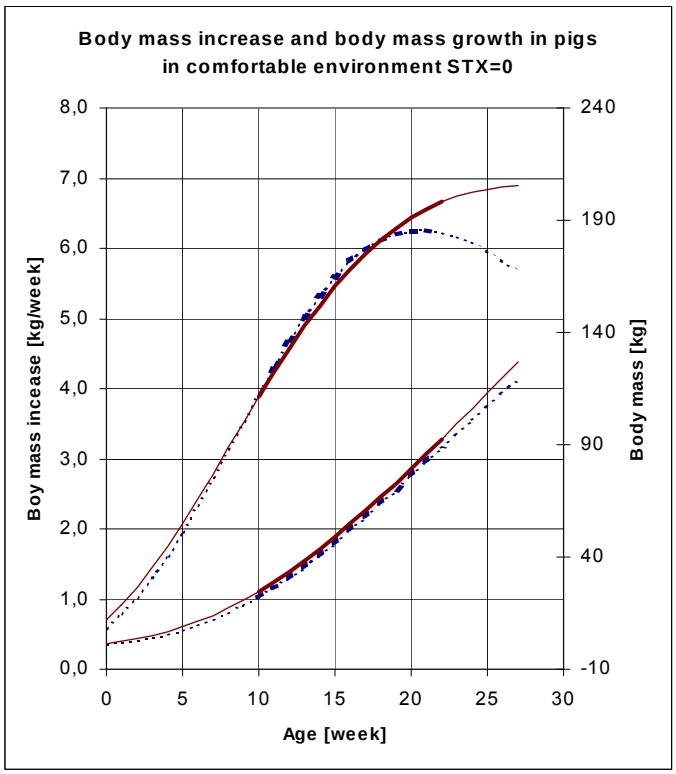


Figure 3. Body mass increase (dG) and body mass growth (G) in controls (dashed thin line) and in experimental groups (continuous thin line) in comfortable environment stressors index STX=0. Intervals of fattening are marked as heavy lines.

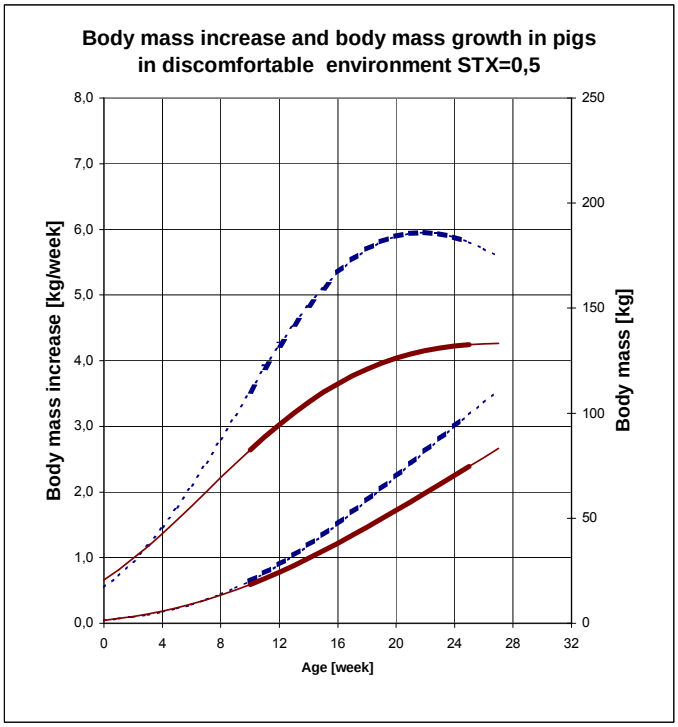


Figure 4. Body mass increase (dG) and body mass growth (G) in controls (dashed thin line) and in experimental group (continuous thin line) in the environment with stressors impact STX= 0,5. Intervals of fattening are marked as heavy lines.

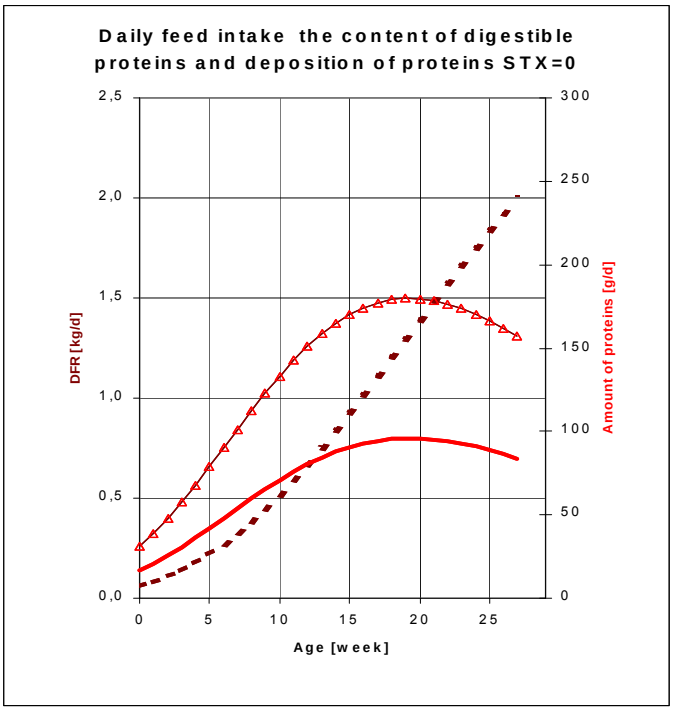


Figure 5. Daily feed intake (DFR) (dashed thick line) and the the amount of digestible proteins present (thin line with triangles) and the amount of proteins deposited in tissues of the pig´s body.in comfortable environment STX = 0.

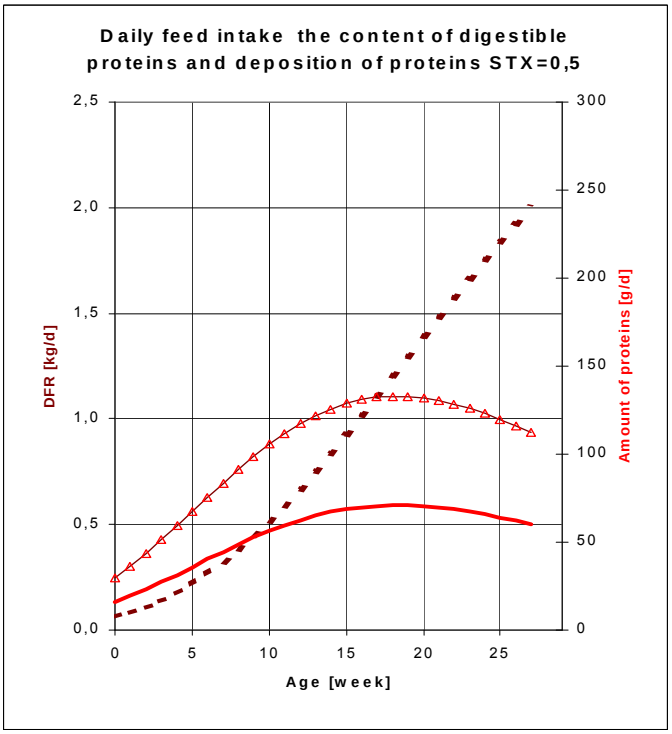


Figure 6. Daily feed intake (DFR) and the the amount of digestible proteins present (thin line with triangles) and the amount of proteins deposited in tissues of the pig´s body in the environment with stressors activitiy STX=0,5

References

PÜTTER A. 1920: Studien über physiologische Ähnlichkeit. VI.

Wachtumsähnlichkeiten. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.* 180: 298–340.

NOVÁK *L*. 2005: Modelling of growth in biology. *Scripta Medica* 78: 366–367. (Abstr.).

NOVÁK L. 2006: Dynamic phenotype and its significance for animal and human growth assessment. *Scripta Medica* 79 (5-6) 298-299 (Abstract)

NOVÁK L. KUKLA L. ZEMAN L. 2007*:* Characteristic Difference between the Growth of Man and the other Animals. *Prague Medical Report* Vol. 108 No. 2, p. 000-000

Novák, L. 1996: Self-regulating growth model in homoioterms (SGM) *Acta Vet. Brno 65: 107 – 114.*

Novák, L. 2003: The growth of farm animals simulated by the biologic model of growth. *Tagungsband 2. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG : 02. October 2003 Wien, 84-89.*

Novák, L. 2004: Perspectives in the evaluation of feeding results of farm animals by the biologic model of growth. *Tagungsband 3. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG : 04. November 2004 Wien, 183-187.*

Novák L. Zeman L. Novák P. Mareš, P. 2005: Modeling of feed intake during fattening pigs growth. *Tagungsband 4. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG: 27. October 2005 Wien 246-255. ISBN 3-900962-62-6.*

Novák L. Zeman L. Novák P. 2006: Simulation of body mass growth of livestock using the method of the phenotype values. *Tagungsband 5. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG : 02. November 2006 Wien, 174-178. ISBN-10 3-900962-66-1.*

Wenk C. 2005: Ensatz von Kräutern und deren Extrakten in der Tierernährung: Erwartungen und Möglichkeiten. *Tagungsband 4. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG: 27. October 2005 Wien 17-27. ISBN 3-900962-62-6*

Grant NAZV QF3070 supported the work.

Shotcut codes used in the text:

DPMG - Dynamic Phenotype Method of Growth, BMG - Biologic Model of Growth.

dPRs – deeposited proteins, dLPs - deposited lipids, dPOP – deposited minerals

dWa - deposited water, IMEF – metabolizable energy intake in the feed,

THP - total production of metabolic heat, CEE – cooling effect of the environment,

STX - sum of the stressing factors impact, dG - body mass increse,

NE - net energy, DFR - daily feed rations intake

Contact to authors

Prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.
Department of animal nutrition and forage production
Mendel University of Agriculture and Forestry Brno
Zemedelska 1, 613 00 Brno
e-mail: zeman@mendelu.cz

Auswirkungen der temporären Ammenkuhhaltung auf die Milchinhaltsstoffe

J. Haidvogl[1], W. Windisch[1], C. Plitzner[1]

[1]Universität für Bodenkultur Wien

Einleitung

Die Milchviehhaltung zählt weltweit zu den arbeitsintensivsten agrarischen Produktionstätigkeiten. Die Gesamtarbeitszeitbelastung in der Milchviehhaltung liegt in Österreich bei durchschnittlich 110 AKh / Tier und Jahr (vgl. Blumauer, 2004). 2005 wurden in Österreich 800.000 Kühe gehalten. Diese teilen sich auf in rund 540.000 Milchkühe und in 260.000 Mutterkühe. In Österreich gibt es ca. 64.000 muttertierhaltende Betriebe mit durchschnittlich 13 Kühen (vgl. BLFUW, 2005).

Milchquotenpreise (bei 4,2 % Fett) von 1 € und darüber sind Realität und stehen schon lange nicht mehr in einem wirtschaftlich ökonomischen Zusammenhang mit der Vollkostenrechnung in der Milchproduktion. Ein Lösungsansatz für das Produkt „Überschussmilch" (= Milch nach der Erfüllung der Quote) könnte die temporäre Ammenkuhhaltung sein, welche v. a. weniger arbeitsintensiv ist.

Bei der temporären Ammenkuhhaltung werden die Milchkühe nur eine bestimmte Zeit innerhalb der Laktationsperiode zur Milchablieferung für die Molkerei herangezogen. Ist die für den Betrieb zur Verfügung stehende Milchquote erfüllt, werden die Kühe innerhalb der Melkphase auf Ammenkuhhaltung umgestellt. Die dafür benötigten Saugkälber werden mit einem Gewicht von ca. 100 kg und einem Alter von ca. 5 bis 7 Wochen zugekauft. Die Umstellung der Kühe von der Melk- zur Ammenkuhphase ist stark von der Milchleistung der Tiere abhängig. Mit vorliegender Studie soll überprüft werden, wie sich die Milchinhaltsstoffe während des Zeitraums der Umstellung auf die temporäre Ammenkuhhaltung verhalten, um daraus Rückschlüsse auf eventuelle Probleme mit der Nährstoffversorgung der Kühe und Milchhygiene ziehen zu können.

Material und Methoden

Der Versuch wurde am Betrieb der Haidvogl Ges.b.R in Reinprechts bei Weitra durchgeführt. Die Rinderhaltung am Versuchsbetrieb erfolgte in einem Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden. Der Stall war mit einem Kälberschlupf versehen, in welchem den Kälbern Heu und Kraftfutter zugefüttert wurde. Die Fütterung der Versuchskühe erfolgt über eine getrennte Zuteilung des Grund- und Kraftfutters. Das Kraftfutter wurde in der Laktationsphase bei der Melkung der Tiere verabreicht. Während der Ammenphase wurde das Kraftfutter nur in Form eines Ausgleichsfutters direkt am Futtertisch gefüttert. Als Grundfutter wurde Ganzjahressilage ad libitum verfüttert, die sich aus 70 % Grassilage und 30 % Maissilage zusammensetzte und je nach Produktionsabschnitt mit geringen Mengen an Heu oder Futterstroh vermischt wurde.

Die Datenerhebung erfolgte im Zeitraum von November 2005 bis Dezember 2006. Durch die Ausweitung des Versuchszeitraumes auf ein Jahr konnten einige Tiere mit zwei Datensätzen im Versuch berücksichtigt werden. Abbildung 1 zeigt den Produktionszyklus des Betriebes.

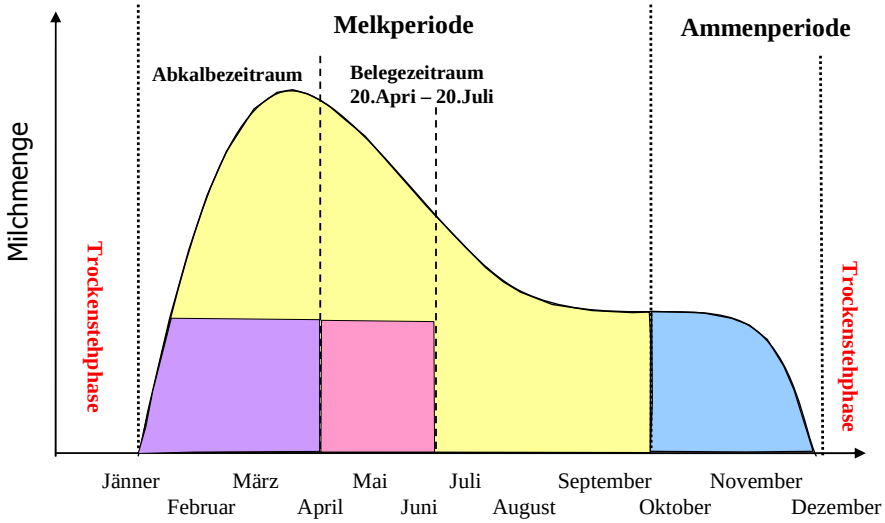


Abbildung 1: Laktationskurve bei temporärer Ammenkuhhaltung: Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Ammen-, Laktations- und Trockenstehphase

Die Umstellung von Milchproduktion auf Ammenkuhhaltung erfolgte im Dezember 2005 mit 9 Tieren und im November 2006 mit 26 Tieren. An beiden Umstellungsterminen wurden die Kühe um 6:00 Uhr morgens zum letzten Mal gemolken. Am Nachmittag des Umstellungstages wurden den Versuchskühen die neu erworbenen Kälber zugesetzt. Um eine ausreichende Versorgung der zugekauften ca. 100 kg schweren Kälber sicherzustellen, wurden zum 1. Umstellungstermin den 9 Kühen 7 Kälber und zum 2. Umstellungstermin den 26 Kühen 20 Kälber zugegeben.

21 Tage bzw. 1 Tag vor der Umstellung auf die temporäre Ammenkuhhaltung wurde im Zuge der Leistungskontrolle des Bestandes durch den Landeskontrollverband Niederösterreich jeweils eine Milchmischprobe gezogen. Die Probenziehungen nach der Umstellung gestalteten sich schwierig, da die Versuchstiere keiner geregelten Maschinenmelkung mehr unterstellt waren. Aus diesem Grunde mussten die Milchmischproben von Hand gezogen werden. Die Probenziehung erfolgte zwischen 6:30 Uhr und 7:00 Uhr morgens. Um eine Mischprobe möglichst zu gewährleisten, wurde versucht, nach händischem Wegmelken der ersten Milchstrahlen, 250 ml Milch aus allen vier Vierteln gleichmäßig in ein Probengefäß zu melken. Die gewonnenen Milchmischproben wurden vom Qualitätslabor NÖ (Gmünd) auf Eiweiß- und Fettgehalt, Zellzahl und fettfreie Trockenmasse untersucht. Weiterhin wurde der Ketonkörpergehalt der Milch unmittelbar nach der Probengewinnung mittels Teststreifen erhoben (Ketolac BHB, Sanwa Kagaku Kenkyusho CO, Japan).

Die Ergebnisse wurden mit SAS mittels GLM Prozedur varianzanalytisch (ANOVA) ausgewertet. Der multiple Mittelwertsvergleich wurde mit dem Tukey Test durchgeführt. Die folgende Tabelle und Abbildung zeigen die Mittelwerte im zeitlichen Verlauf und die mittleren Standartfehler (S.E.). Statistisch gesicherte Abweichungen der Mittelwerte ($p<0,05$) wurden mit unterschiedlichen Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse

In Tabelle 1 ist die Veränderung der Milchinhaltsstoffe im zeitlichen Verlauf dargestellt. Die Ergebnisse liefern einen Überblick über die Veränderungen der Milchinhaltsstoffe bezogen auf den Zeitpunkt der Probennahme, wobei Tag 0 den Umstellungstag markiert.

Vor der Umstellung auf Ammenkuhhaltung war ein durchschnittlicher Fettgehalt von 4,34 % vorzufinden. Dieser fällt nach der Umstellung stetig ab und erreicht nach 49 Tagen einen um rund 1 % geringeren Fettgehalt als am 21. Tag vor der Umstellung. Diese Beobachtung konnte zwischen dem -21. Tag und dem 2. und 4. Tag der Probennahme statistisch abgesichert werden ($p<0,05$). Wegen der hohen durchschnittlichen Schwankungen von 1,49 %-Punkten konnten aber zwischen den Tagen 0, 8 und 49 keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Der Trend zeigt jedoch klar eine Verringerung des Fettgehaltes nach der Umstellung auf Ammenkuhhaltung.

Beim Parameter Eiweiß kam es gleich nach der Umstellung auf Ammenkuhhaltung (= Tag 2) zu einem signifikanten Anstieg des Eiweißgehaltes um ca. 0,35 %-Punkte. Dieser Tag 2 der Probennahme unterschied sich signifikant vom Tag -21, 0 und 4 der Probennahme. Am 4. Tag nach der Umstellung auf Ammenkuhhaltung kam es wieder zu einem Abfall des Eiweißgehaltes auf 3,37 %, was dem Gehalt vor der Umstellung entsprach. Gegen Ende der Laktation (= Tag 49) näherte sich der Eiweißgehalt wieder dem Niveau des Tages 2 nach der Umstellung an.

Im Merkmal fettfreie Trockenmasse konnte keine statistischen Unterschiede nachgewiesen werden.

Tabelle1: Einige Milchinhaltsstoffe in Abhängigkeit des Tages der Probennahme

Parameter	**Tag der Probennahme**						**S.E.**
	-21	**0**	**2**	**4**	**8**	**49**	
Fett %	$4,34^{a}$	$4,14^{ab}$	$3,16^{b}$	$3,23^{b}$	$3,39^{ab}$	$3,40^{ab}$	1,49
Eiweiß %	$3,29^{b}$	$3,37^{b}$	$3,66^{a}$	$3,37^{b}$	$3,42^{ab}$	$3,52^{ab}$	0,39
ffT %	8,78	8,83	8,78	8,61	8,73	8,53	0,44
Zellzahl (*1.000) / ml	131^{c}	131^{c}	399^{ab}	357^{b}	481^{ab}	589^{a}	290
Ketonkörper µmol / l			119^{a}	48^{b}	65^{b}	101^{a}	61

ffT = fettfreie Trockenmasse

$^{abc)}$ = Mittelwerte eines Parameters mit unterschiedlichen Hochzahlen unterscheiden sich signifikant ($p <0,05$)

Unmittelbar nach der Umstellung auf Ammenkuhhaltung kam es zu einem Anstieg der Zellzahl von etwa 130.000 auf über 300.000/ml, der sich bis zum Ende der Untersuchung auf über 500.000/ml fortsetzte ($p <0,05$).

Die Messung des Ketonkörpergehalts erfolgte aus organisatorischen Gründen erst nach der Umstellung auf temporäre Ammenkuhhaltung. In Verlauf der ersten Beobachtungswoche sank der Gehalt an Ketonkörper ausgehend von 119 mmol/l auf etwa die Hälfte ($p < 0.05$), um bis zum Ende der Untersuchung in etwas wieder zum Ausgangswert zurückzukehren (101 mmol/l).

Diskussion

Die im zeitlichen Verlauf erhobenen Durchschnittswerte des Parameters Fett weisen zwar signifikante Differenzen auf, scheinen jedoch nicht zwingend im Zusammenhang mit der temporären Ammenkuhhaltung zu stehen. Nach Seggewiß (2005) kommt es zu einem Anstieg des Fettgehaltes in der Milch während des Milchabgabevorganges von 1,15 % im Vorgemelk, auf 2,5 % im Hauptgemelk und weiters auf bis zu 14,6 % im Nachgemelk. Die in der Untersuchung gewonnenen Milchmischproben wurden nur vor der Umstellung auf Ammenkuhhaltung (Tag -21 und Tag 0) über die gesamte Milchsekretion des Euters während des Melkvorganges erhoben. Das bedeutet, dass die Milchproben vor der Umstellung auf Ammenkuhhaltung einen direkt proportionalen Anteil des Vor-, Haupt-, und Nachgemelkes enthielten. Nach der Umstellung auf Ammenkuhhaltung konnten keine gleichmäßig über den gesamten Milchfluss gesammelten Milchproben gewonnen werden. Denn bei der Sammlung der Milchproben zeigte sich, dass die Euter der Versuchskühe gar nicht bis ganz entleert waren, je nach dem ob ein Kalb vorher an der Kuh gesaugt hat oder nicht. Dadurch sind auch die Schwankungen im Fettgehalt der gewonnenen Milchproben zwischen 0,27 % und 12,21 % erklärbar. Alle erhobenen Proben befanden sich in dem nach Seggewiß (2005) beschriebenen Prozentbereich. Daraus dürfte geschlossen werden, dass die temporäre Ammenkuhhaltung keinen direkten Einfluss auf den Milchfettgehalt aufweist.

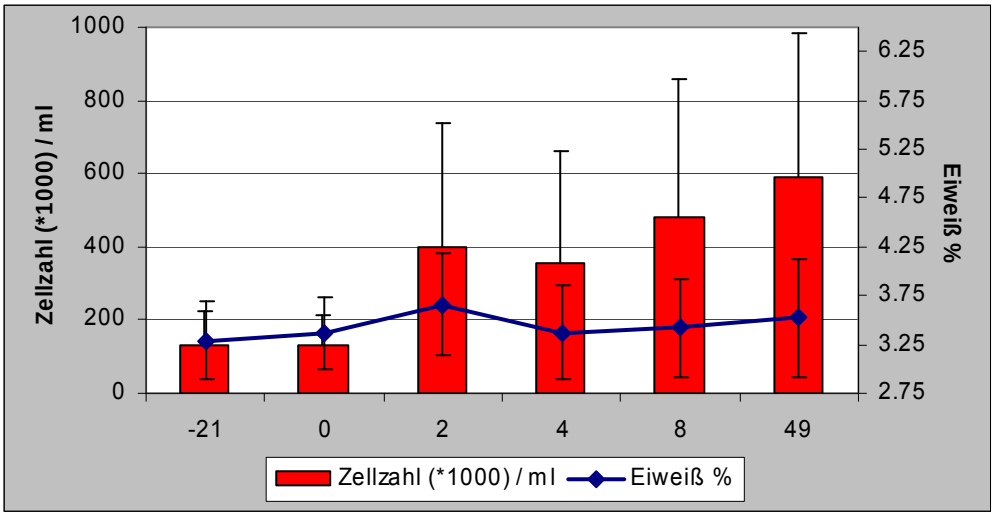


Abbildung 2: Entwicklung des Zellzahlgehaltes und des Eiweißgehaltes in Milch im zeitlichen Verlauf der temporären Ammenkuhhaltung. Abszisse: Tage vor und nach dem Umstellungszeitpunkt (0 = Umstellungszeitpunkt)

Die im zeitlichen Verlauf erhobenen Werte der prozentualen Eiweißgehalts der Milch und der Zellzahl weisen so wie auch der Fettgehalt der Milch signifikante Unterschiede zwischen dem Zeitpunkt vor und nach der Umstellung auf Ammenkuhhaltung auf. Direkt nach der Umstellung (zwischen Tag 0 und Tag 2 der Probennahme) kann man in Abbildung 2 einen Anstieg der Zellzahl und des Eiweißgehaltes beobachten ($p < 0,05$). Dieser Anstieg der durchschnittlichen Zellzahl um rund 250.000 Zellen je ml Milch könnte darauf zurückgeführt werden, dass die Kälber über den gesamten Tag verteilt saugen. Dies könnte dazu führen, dass sich die Zitzen nicht vollständig verengen und verschließen, was ein Eindringen von Keimen in das Eutergewebe begünstigt (vgl. Newmann et al., 1991 sowie Wilson et al., 1971). Das vollständige Schließen des Strichkanals kann nach der letzten Melkung beziehungsweise Saugung bis zu 5 Stunden dauern (vgl. Tschischkale und Peters, 2003). Der Anstieg

der Zellzahl je ml Milch am Ende des Versuches könnte darauf zurückgeführt werden, dass sich Keime durch die Erstinfektion bei der Umstellung auf Ammenkuhhaltung im Euter festsetzen, die auch durch die vollständige Euterentleerung nicht mehr ausgeschwemmt werden (Paape et al. 2000).

Beim Milchparameter fettfreie Trockenmasse kam es zu keinen numerischen Differenzen während des zeitlichen Ablaufes der temporären Ammenkuhhaltung. Nach Kirchgeßner (2004) und Foissy (2005) besteht die fettfreie Trockenmasse aus zwei weitgehend konstanten Milchinhaltsstoffen (Laktose 4,7 % und Salze 0,75 %) und dem Eiweiß als variablem Milchparameter. Dadurch waren beim Parameter fettfreie Trockenmasse nur geringe Schwankungen zu erwarten, wie auch in der vorliegenden Studie nachgewiesen werden konnte.

Die Erhebung der Ketonkörperwerte im zeitlichen Verlauf der Ammenkuhhaltung sollte einen Rückschluss auf den Energieversorgungszustand der Versuchskühe erlauben. Die im Versuch erhobenen Ketonkörperwerte weisen zwar signifikante Differenzen zwischen den Tagen der Probennahme auf, die Werte liegen jedoch im Normalbereich der Rinderphysiologie (zwischen 48 und 119 µmol je l Milch). Francos et al. (1997) gibt für die Kuhmilch einen Normalbereich der BHB-Konzentration von unter 100 µmol je l Milch an, wobei ein Wert von bis zu 200 µmol je l Milch keine eindeutige Abweichung vom Normalbereich darstellt. Somit konnte auch bei diesem Merkmal festgestellt werden, dass die temporäre Ammenkuhhaltung keinen praxisrelevanten Einfluss auf die Milch ausübt. Offenbar bereitet die Umstellung den betroffenen Ammenkühen auch hinsichtlich der Energieversorgung keine nennenswerten Probleme.

Literatur

BLUMAUER, E. (2004): Arbeitszeit und Arbeitserleichterung in der Milchviehhaltung des Berggebietes. 3. Tagungsband der Fachtagung: Landtechnik im Alpenraum, 11. - 12. Mai 2004, Feldkirch.

BUNDESMINISTERIUM FÜR LAND- UND FORSTWIRTSCHAFT, UMWELT UND WASSERWIRTSCHAFT – BMLFUW (2005): Grüner Bericht 2005. Wien: Eigenverlag.

FOISSY, H. (2005): Milchtechnologie – Eine vorlesungsorientierte Darstellung, Vorlesungsskript, Wien: IMB-Verlag.

FRANCOS, G.; INSLER, G. UND DIRKSEN, G. (1997): Routine testing of milk beta-hydroxybutyrate for the detection of subclinical ketosis in dairy cows, The Bovine Practitioner 31, 61 - 64.

KIRCHGEßNER, M. (2004): Tierernährung, 11. neu überarbeitete Auflage, Frankfurt/Main: DLG - Verlag.

NEWMAN, M.A.; WILSON, L.L.; CASH, E.H.; EBERHART, R.J. UND DRAKE, T.R. (1991): Mastitis in beef cows and its effects of calf weight gain, Journal of Animal Science 69, 4259 - 4272.

PAAPE, M.J.; DUENAS, M.I.; WETTEMANN, R.P. UND DOUGLASS, L.W. (2000): Effects of intramammary infection and parity on calf weaning weight and milk quality in beef cows, Journals of Animal science 78, 2508 - 2514.

SEGGEWIß, S. (2004): Überprüfung der Bedeutung von Milchinhaltsstoffen für die Beurteilung der Energie-, Protein- und Strukturversorgung von HF-Kühen, Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

TSCHISCHKALE, R. UND PETERS TH. (2003): Umweltbedingte Mastitiden, Nutztierpraxis aktuell, Ausgabe 7, Dezember 2003.

WILSON, L.L.; EBERHART, R.J.; SIMPSON, M.J.; VARELA-ALVAREZ, H.; RUGH, C.M. UND BLAIR, L.G. (1971): Incidence of intramammary infections and effects of number of lactations, lactation stage, quarter and calf sex on somatic cell content of milk from Angus-Holstein F1 cows, Journal of Animal Science 33; 433.

Autorenadresse

Dr. Christian Plitzner
Department für Lebensmittelwissenschaften und –technologie
Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Gregor Mendel-Strasse 33, A-1180 Wien
e-Mail: christian.plitzner@boku.ac.at

Aktuelle Fragen des Futtermittelgesetzes in Republik Litauen

Sabina Mikulionienė[1], Dalia Stasiūnienė[2], Algirdas Januškevičius[3]

[1] Litauische Landwirtschaftliche Universität
[2] Assoziation der Getreideverarbeiter Litauen
[3] Litauische Veterinärmedizinische Akademie

Einleitung

In mehreren EU Staaten werden spezielle Futtermittelgesetze erlassen, die die wichtigsten Richtlinien der EU einschließen und zu einem Gesamtsystem die ganze Futtermittelwirtschaft, die Herstellung und die Qualitätskontrolle von Futtermitteln verknüpfen. Solches Gesetz wurde im Jahr 2000 in Litauen erlassen. Das Hauptziel des Futtermittelgesetzes ist es, die allgemeinen Anforderungen bei der Herstellung, Lagerung, Transportieren, Verwenden, Lieferung und Qualitätskontrolle zu reglementieren. Bei der Einhaltung der Rechtsvorschriften wird die Herstellung von vollwertigen und qualitativen Warenfuttermitteln aller Art gewährleistet, und die Konkurrenzfähigkeit in Binnen- und Auslandsmarkt vergrößert.

Die Grundvorschriften des Futtermittelgesetzes werden zu allgemeinen Verordnung der Richtlinien der EU über Füttermittel koordiniert. Zur Durchsetzung des Futtermittelgesetzes werden in Litauen viele allgemeine Verwaltungsvorschriften erlassen. Das sind Futtermittelklassifikation und pflichtgemäße Anforderungen an Qualität (gemäß EU Richtlinien 75/292/EEC; 79/373/EEC; 80/502/EEC; 82/475/EEC; 91/357/EEC; 92/87/EEC; 98/67/EC).

Regeln der Inverkehrbringen von Futtermitteln (gemäß EU Richtlinien 79/373/EEC; 80/511/EEC; 90/44/EEC; 93/74/EEC; 95/25/EEC u. a.).

Methodik der Bewertung der Futtermittelqualität (gemäß EU Richtlinien 70/373/EEC; 86/174/EEC).

Verzeichnis der verbotenen Futtermittel und Futtermittelstoffe, der zugelassenen Futtermittelzutaten sowie die größte Zulassungsnorm der unerwünschten schädlichen Stoffe in Futtermitteln (gemäß EU Richtlinien 70/524/EEC; 74/63/EEC; 83/228/EEC; 90/167/EEC; 91/516/EEC; 93/113/EEC u. a.).

Gemäß diesem Gesetz werden Rechtsvorschriften des Ministers für Landwirtschaft erlassen, die die Herstellung, Verwenden und Inverkehrbringen von Futtermitteln reglementieren und Ordnung der amtlichen Kontrolle der Futtermittelqualität festlegen.

Auftrag des Gesetzes

1. Dieses Gesetz wurde 04.06.2000 Nr. VIII-1610 erlassen.
2. Dieses Gesetz stellt die rechtliche Grundlage der Herstellung, Lagerung, Verpackung, Transportieren, Verwenden, Lieferung und Qualitätskontrolle von Futtermitteln dar.
3. Dieses Gesetz gewährleistet Anwendung von Rechtsakten der Europäischen Union.

Anwendungsbereich des Gesetzes

Dieses Gesetz gilt für alle Wirtschaftssubjekte, die die Futtermittel herstellen, lagern, verpacken, transportieren, verwenden und liefern sowohl für Institutionen, die die amtliche Kontrolle der Futtermittelqualität und –Sicherheit durchführen.

Herstellung, Lagerung, Verpackung, Transportieren, Verwenden und Lieferung von Futtermitteln

Bedingungen der Futtermittelherstellung

1. Die Futtermittel herstellen, lagern, verpacken und liefern dürfen in Republik Litauen nur diese Wirtschaftssubjekte, die eine Bestätigung und (oder) Registrieren haben.
2. Die Wirtschaftssubjekte, die eine Bestätigung haben, werden in ein Bestätigungsregister, die eine Registrieren haben-in ein Verzeichnis eingetragen. Bedingungen der Bestätigung und (oder) Registrieren für Wirtschaftssubjekte, die Futtermitteltätigkeit ausüben, werden von dem Ministerium für Landwirtschaft festgestellt.
3. Die Futtermittel müssen in gemäß veterinärmedizinischen und hygienischen Anforderungen eingerichteten Räumen hergestellt werden und die anhand Rechtsakten, Standards und Methodiken festgelegten Auforderungen entsprechen.

Lagerungsbedingungen von Futtermitteln

Die Futtermittel müssen verpackt oder unverpackt in den veterinärmedizinische und hygienische Anforderungen entsprechenden Lagerräumen und Behälter gelagert werden und die Regeln der Futtermittellagerung beachten. Die Regeln der Futtermittellagerung werden von dem Ministerium für Landwirtschaft festgelegt.

Anforderungen für Transportieren, Verwenden und Inverkehrbringen von Futtermitteln.

Die Futtermittel müssen die in Stimmigkeitsdeklaration in der Lieferanten und in Kennzeichnungs-

vorschriften festgelegten Daten sowie pflichtgemäße Anforderungen der Futtermittelsicherheit und

Kennzeichnung gerecht werden.

Anforderungen für Ausfuhr, Einfuhr und Durchfuhr von Futtermitteln

Die Einfuhr, Ausfuhr und Durchfuhr von Futtermitteln

Die Ein- und Ausfuhr von Futtermitteln vollzieht gemäß dem Gesetz der Verordnung (EG) Nr. 2913/1992 vom 12. Oktober 1992 des Rates über Zallkodex der Gemeinschaft und Verordrung (EG) Nr. 2454/1993 vom 2. Juli 1993 der Kommission sowie Verordnung des Rates (E6) Nr. 2913/1992 mit Vorschriften über Durchführung des Zollkodex der Gemeinschaft, Veterinärgesetze der Republik Litauen , Vorschriften der anderen Gesetze und Rechtsakte sowie internationale Verträge. Die

Futtermittel für Ein- und Ausfuhr müssen Stimmigkeitsdeklaration sowie Phytosanitarische Bescheinigung haben.

Die Regeln der Stimmigkeitswertung der Futtermittelzutaten und Vormischungen werden von dem Ministerium für Landwirtschaft festgelegt.

Durchfuhr von gefährlichen Futtermitteln über Republik Litauen ist verboten. Ein- und Ausfuhr von genetisch veränderten Futtermitteln, die als Saatgut verwendet werden können, müssen die Risikobewertung für Umwelt von dem Umweltministerium der Republik Litauen haben.

Ordnung der Statistikrechnung von Futtermittelherstellung, -Handel und –Vorrat, und auch Aspekte der Staatlichen Futtermittelqualitätskontrolle und Verwaltung

Rechnung

Ordnung der Statistikrechnung von Futtermittelherstellung, -Handel und –Vorrat sowie Häufigkeit der Datenabgabe wird von dem Statistikdepartament der Regierung der Republik Litauen mit der Zustimmung von Landwirtschaftministerium der Republik Litauen festgelegt.

Staatliche Futtermittelqualitätskontrolle

1. System der staatlichen Futtermittelqualitätskontrolle besteht aus:

Einfuhr-, Durchfuhr- und Ausfuhrzollkontrolle der Futtermittel in der Republik Litauen; Kontrolle des Veterinärmedizinischen und hygienischen Zustands der Räume, die für Futtermittelherstellung, -Lagerung, -Verpackung, -Verwenden und -Inverkehrbringen geeignet sind, sowie Kontrolle der Qualitätskennzahlen von Futtermitteln und Anforderungen für Sicherheit; Labornetz für Futtermitteluntersuchung; Untersuchung der Futtermittelproben, die die Beamten der staatlichen Futtermittelqualitätskontrolle eingesammelt haben, sowie Untersuchung der Qualitäts- und Sicherheitskennzahlen; Bestätigungs- und (oder) Registrationskontrolle der Wirtschaftssubjekten, die die Futtermittelherstellung-, -Lagerung, -Verpackung und –Inverkehrbringen durchführen.

2. Regeln der staatlichen Futtermittelqualitätskontrolle werden von dem Landwirtschaftsministerium festgelegt.

Organe, die die staatliche Futtermittelqualitätskontrolle durchführen

- Staatliches Nahrung und Veterinäramt der Republik Litauen.
- Staatliches Samen- und Getreideamt des Landwirtschaftsministeriums der Republik Litauen bestätigt und (oder) registriert Wirtschaftssubjekte, die die Futtermittelherstellung, -Lagerung, -Verpackung und –Inverkehrbringen durchführen.
- Labornetzkontrolle für Futtermitteluntersuchung wird von dem von Landwirtschaftsministerium beauftragtem Organ durchgeührt.

- Phytosanitarische Pflanzenproduktenkontrolle wird von dem staatlichen Pflanzensicherung-Samt der Republik Litauen durchgeführt.

Komitee der Futtermittelwirtschaft

Komitee der Futtermittelwirtschaft wird aus Wissenschaftlern und Vertretern anderer Institutionen gebildet. Komitee gibt wissenschaftlich begründete Empfehlungsergebnisse im Bereich der Futtermittelsicherheit, -Qualität, Herstellung der neuen Futtermittel für beteiligte Organe der Republik Litauen, sowie gibt Empfehlungen über Rechtsakteprojekte der Europäischen Union und gemäß der Kompetenz ist in der Zusammenarbeit mit Europäischen Kommission.

Wegen Zweckmäßigkeit der Änderungen im Futtermittelgesetz der Republik Litauen

Meinung der Assoziation von Getreideverarbeiter in Litauen nach, ist es notwendig das Futtermittelgesetz zu ändern. Neufassung des Futtermittelgesetzes wurde am 29. April 2004 am Vorabend des Eintritts in die Europäische Union erlassen, deshalb fehlt im Gesetz Paragraph „Verwirklichung der EU-Rechtsakte".

Nachdem das Gesetz in Kraft trat haben die Institutionen der Europäischen Union ziemlich viele Richtlinien und Verordnungen im Bereich des Futtermittelsektors angenommen. Einige Bestimmungen der Richtlinien wurden in die Rechtsakte, die von Ministerium für Landwirtschaft verabschiedet wurden, verlegt, und Verordnungsbestimmungen sind in Litauen direkt geltend.

Dies alles hat verursacht, dass auf dem Rechtbasis des Futtermittelsektors des Landes zwischen den gesetzlichen EU-Rechtsakten und dem Futtermittelgesetz selbst Unstimmigkeiten entstanden sind.

Im Futtermittelgesetz widerspiegeln sich keine grundsätzlichen von EU in den letzten Jahren verabschiedete Rechtsakte, z.B. : Verordnung (EG) Nr. 183/2005 des Europäischen Parlaments mit Vorschriften für die Futtermittelhygiene; Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung; Verordnung (EG) Nr. 882/2004 des Europäischen Parlaments über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz; Verordnung (EG) Nr. 382/2005 der Kommission mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 1786/2003 des Rates über die gemeinsame Marktorganisation für Trockenfutter; Verordnung (EG) Nr. 93/2005 der Kommission zur Änderung der Verordnung des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Verarbeitung tierischen Nebenprodukten; Richtlinie Nr. 2006/77 EG, Nr. 2005/86 EG, Nr. 2006/13 EG, Nr. 2005/87 EG der Kommission zur Änderung von Anhang der Richtlinie 2004/32 EG des Europäischen Parlaments und des Rates über unerwünschte Stoffe in der Tierernährung, und andere Rechtsakte.

EU Verordnungen sind in Litauen direkt geltend, doch einige Bestimmungen sind für Litauen nicht aktuell, deshalb ist es sinnvoll in den Futtermittelgesetz nur die Bestimmungen der Verordnungen zu verlegen, die für Futtermittelsektor und Landwirtschaft Litauens relevant sind.

EU Richtlinien sind in Litauen nicht direkt geltend, doch ihre Bestimmungen müssen in die nationale Rechtsakte verlegt werden. Einige Bestimmungen der EU Richtlinien sind für Litauen nicht wohlgeordnet, deshalb bei der Verlegung dieser Bestimmungen in das Futtermittelgesetz ist es sinnvoll die kategorischen Vorschriften für die Bedingungen in Litauen anzupassen. Z.B.: Richtlinie 2002/32 EG des Europäischen Parlaments und des Rates in Bezug auf die Höchstgehalte für unerwünschte Stoffe in Futtermitteln, 5. Punkt gibt Vorschriften, dass die Mitgliedstaaten dafür

sorgen, dass die Produkte für die Tierernährung mit überhöhten Gehalten an unerwünschten Stoffen (es wird im 1.Anhang vorgelegt), dürfen nicht mit gleichen oder anderen Produkten für die Tierernährung gemischt werden, um Konzentration dieser Stoffe zu verkleinern. Es ist uns bekannt, dass diese kategorische Anforderung in manchen EU Ländern nicht vollgezogen wird, weil die Schadstoffe oft in Getreide und anderen pflanzlichen Produkten gefunden werden. Um diese Produkte mit anderem Schadstoffe enthaltendem Getreide nicht zu vermischen, sollte man diese Produkte vernichten.

In Litauen ist auch das Problem der Getreideverunreinigung durch Mikotoxinen, deshalb gemäß den Vorschriften der oben genannten Richtlinie sollte man verunreinigte Getreide vernichten und das führt zu den großen Schaden.

Wird gemeint, dass mit der Verlegung von Bestimmungen der Richtlinie Nr.2002/32 EG in das Futtermittelgesetz, wäre es sinnvoll auch Behandlung von Schadstoffe enthaltenden Produkten (Getreide) vorzusehen, damit würden die Hersteller und Landwirtschaftswissenschaftler gefördert neue Behandlungsmethoden von Schadstoffe enthaltenden Produkten zu suchen.

Im Futtermittelgesetz fehlen die Bestimmungen, die die zulässige Differenzen für feststellen der Schadstoffe bestimmen, deshalb diese zulässige Differenzen fehlen auch in den von Landwirtschaftministerium festgestellten Regeln für das Inverkehrbringen von Mischfutter. Die Schadstoffe in Futtermitteln sind für die Sicherheit relevant, deshalb sind die Kontrollmaßnahmen dieser Stoffe besonders wichtig.

Ein anderes Problem in EU, das bis heute immer noch nicht gelöst ist, ist mit dem Deklarieren der Zusatzstoffe von Mischfuttermitteln verbunden. Die Kommission verlangt, dass bei der Deklaration der Mischfuttermitteln auf den Etiketten und Packlisten Angabe der Mengen (in Gewichtshundertteilen) von Futtermittel-Ausgangserzeugnisse angegeben werden muss. Futtermittelhersteller aus mehreren EU-Ländern sind mit solcher Anforderung der Kommission nicht einverstanden, weil auf diese Art Know-how der neu hergestellten Mischfuttermittel veröffentlicht würde. Mit dieser Meinung sind auch Futtermittelhersteller in Litauen einverstanden, doch auf EU-Ebene ist die Frage noch nicht gelöst.

Wir sind der Meinung, im neuen Futtermittelgesetz ist es sinnvoll eine Bestimmung einzutragen, dass bei der Deklaration der Mischfuttermittel reicht es Futtermittel-Ausgangserzeugnisse und deren Bestandteile zu erwähnen, und ist nicht nötig Know-how veröffentlichen und zu sagen wie viel konkreter Futtermittel-Ausgangserzeugnisse dabei sind.

Die Definitionen der Zusatzstoffe und Vormischungen, die in den Rechtsakten der Europäischen Union vorgelegt werden, führen zu der irrtümlicher Definition dieser Produkte. Z.B.: kreidehaltige Vormischung kann nicht nur als Vormischung, sondern auch als Zusatzmineralstoff definiert werden. Es ist relevant die Definitionen vereinigen, weil die Verwirrung für die Gesundheit der Tiere schädlich sein kann. In den Regeln des Inverkehrbringens von Mischfuttermitteln wird vorgeschlagen Zusatzstoffe der Futtermittel als Mischungen, die große Mengen einiger Stoffe enthalten, und deren Menge bei den Futtermittel nicht weniger als 2% ist, zu nennen. Aber Einführung der Zusatzstoffe in die Futtermittel nicht weniger als 2% ist keine Rechtsnorm, sondern rechtliche Erfahrung einiger EU Mitgliedstaaten.

Wir sind der Meinung, dass diese Definition im Rahmen des Futtermittelgesetzes festgestellt werden muss.

Literatur

Das Gesetz der Futtermittel der Republik Litauen. Valstybės žinios, 2000 04 26 Nr. 34-952, Vilnius.

Autorenanschrift

Sabina Mikulionienė
Litauische Landwirtschaftliche Universität
Studentų Str. 11, Akademija
LT- 5306, Kauno r.,
tel. (8~37 752359);
e-Mail: Sabina.Mikulioniene@lzuu.lt

The use of humectants in preservatives to modify the a_w-value

Yunior Acosta Aragón, Christian Lückstädt, Tobias Steiner, Gudrun Boeck, Alfred Klimitsch, Gerd Schatzmayr and Sigrid Pasteiner

Biomin GmbH, Herzogenburg, Austria

Introduction

The use of humectants to improve food safety and stabilty during storage has become one of the major principles of food preservation (Matsumoto *et al.*, 2001). A humectant is a hygroscopic substance that is used as a food additive. The addition of a humectant to a foodstuff has been shown to lower its water activity (Sloan and Labuza, 1976). Since hygroscopic substances absorb water, adding a humectant has the effect of decreasing the availability of the water, thereby reducing the water activity value (a_W). Water activity (a_W) is defined as the ratio of water vapour pressure over sample to saturation vapour pressure of pure water, both at the same temperature (Blandamer *et al.*, 2005). Thus, the a_W-value is the amount of "free" or "available" water in a raw material. The formation of hydrogen bonds with water molecules is crucial in this respect. Humectants are often molecules with several hydrophilic groups, most often hydroxyl groups, but amines and carboxyl groups, sometimes esterified, can also be encountered.

The objectives of the present study were to quantify the influence of a mould inhibitor (a blend of propionic and formic acids) and different humectants on the a_W-value of feedstuffs and to measure the proliferation of microorganisms in the feedstuffs after the application of the mould inhibitor enriched with different humectants.

Materials and methods

An experiment was conducted to test the effects of 4 different humectants on the water activity (a_w) and mould growth in feedstuffs over time. Three different concentrations (0, 1 and 2%) of each of four different humectants with a mould inhibitor added were used and compared with a control (without any additives), giving a total of 13 treatments; measured at three time periods. The humectants used were glycerine, propylene glycol, quillaja extract and sorbitol. The mould inhibitor was added at 2 kg / t (= 2 g / kg feedstuff) and the humectants were added at 0% (control), 1% and 2% on the basis of the mould inhibitor. The substrate used was a commercial piglet feed (DM 87.3 %, Metabolizable Energy 13.2 MJ, Crude Protein 18.0 %, Ash 57 g/kg).

The parameters measured were:

- a_w-value
- Colony count (yeasts and molds)

Samples were taken on days 0, 3 and 14 after application of additives.

The moisture content of the feedstuffs was corrected to 14%. The mixture of the mould inhibitor and the humectants was applied to the samples of feedstuffs and mixed thoroughly. The samples were stored at 25 ± 3 °C under aerobic conditions in open buckets away from direct sunlight, simulating warehouse conditions. Samples were taken in triplicate from each bucket at 0, 3 and 14 days after application, and the a_w-value was measured, as well as the total number of microorganisms. The sampling was randomized by using the generator of randomized sequences (Haahr, 1998).

The results were evaluated using SPSS. The groups were compared by mean of media comparison. Furthermore the results were evaluated by the use of correlations and regression functions.

Results

The changes in the a_w-value are shown in Table 1.

Table 1: Mean comparison of the aw-values after 3 and 14 days by using different humectants (2%)

Sampling day	No humectants (control) (n = 3)	Humectants			
		Glycerine (n = 3)	Propylene glycol (n = 3)	Quillaja (n = 3)	Sorbitol (n = 3)
0	0.736^{A} ± 0.010	-	-	-	-
3	0.731^{Ab} ± 0.004	0.724^{Ba} ± 0.006	0.730^{Aab} ± 0.003	0.732^{Ab} ± 0.003	0.728^{Aab} ± 0.009
14	0.744^{Ab} ± 0.008	0.737^{Aa} ± 0.004	0.740^{Aa} ± 0.003	0.735^{Aa} ± 0.003	0.736^{Aa} ± 0.004

$^{A, B}$: different capital letters refer to statistically significant differences in comparison to the variant without humectants at 0 day

$^{a, b}$: different lower case letters mean statistically significant differences between the variants at day 3 or 14

Only the use of glycerine, was found to decrease the a_w-value (to 0.724) significantly after 3 days, when the treatments at 0, 3 and 14 days were compared. The only humectant found to decrease the a_w-value significantly after a 3 days treatment, was glycerine. After 14 days, all treatments with humectants had significantly lower a_w values than the control treatment.

Table 2 compares the different humectant concentrations after 14 days.

Table 2: Comparison of means of a_w-values after 14 days using different concentrations of humectants
[a, b] : different lower case letters denote statistically significant differences between the variants at day 14

Sampling day	Humectant concentration (%)		
	0 (n = 13)	1 (n = 12)	2 (n = 12)
14	0.739^{a} ± 0.006	0.738^{ab} ± 0.002	0.735^{b} ± 0.003

As shown, increasing the level of humectants (from 0% to 2% calculated on the basis of mould inhibitor dosage) decreased the a_w-value significantly, but did not cause significant microbial inhibition.

The total number of microorganisms per gram feed after a 14 days test period is shown in Figure 1.

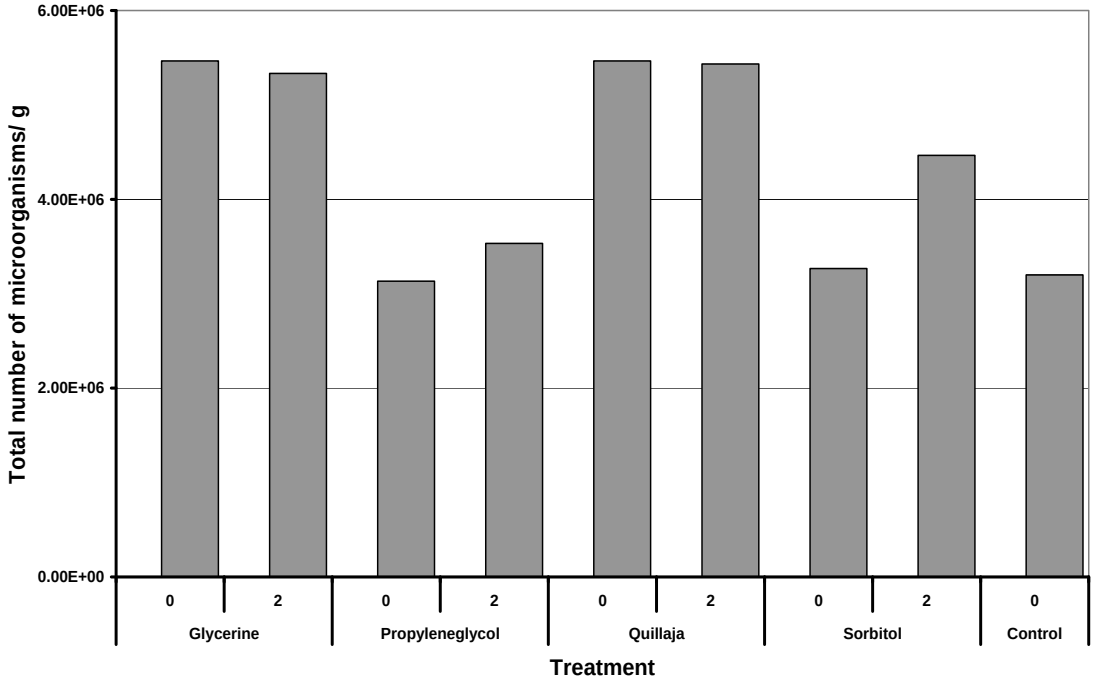


Figure 1: Total number of microorganisms per gram after 14 days

The total number of microorganisms was lowest when the feed was treated with the sole mould inhibitor, without humectants. Only the humectant propylene glycol showed values similar to the control. Addition of glycerine, quillaja extract and sorbitol increased the total number of microorganisms.

Discussion and conclusion

The use of humectants to increase the effect of a mould inhibitor in decreasing the a_w-value and the total number of microorganisms did not did not prove efficient.

As shown in Figure 2, the a_w-value is much related to the DM content of the feed. However, every feed of a specific formulation has different values of a_w at the same DM content.

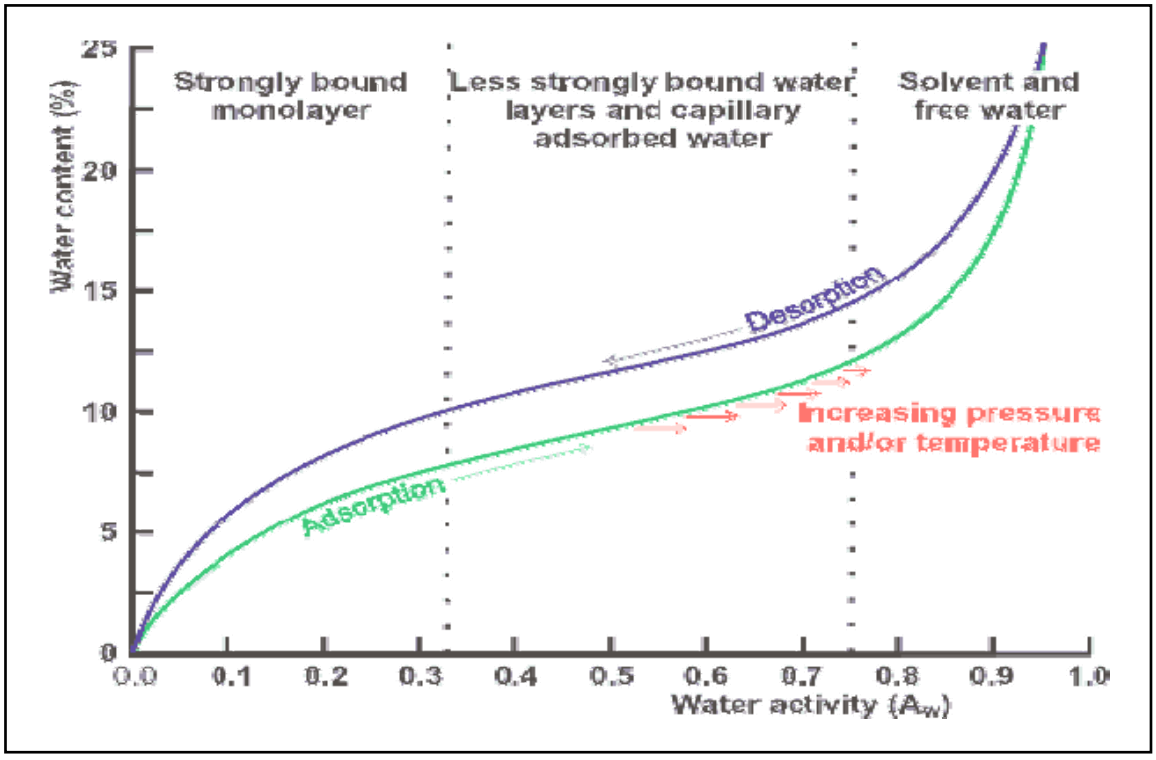


Figure 2: Relationship between a_w and DM content (Chaplin, 2007)

The addition of glycerine decreased the a_w-value statistically significantly, but the decrease did not reach relevant values for preservation (from 0.736 to 0.724). According to Table 3, an a_w-value of 0.72 – 0.74 would be in the inhibition zone for most moulds. Nevertheless, the few species that can survive could cause problems during preservation. The number of microorganisms found in the feed confirmed this.

Table 3: a_w-values for the inhibition of microorganisms (Chaplin, 2007)

Microorganisms	Values of a_w for inhibition	Equivalent in sucrose (% w/ w)
Bacteria	Growth inhibition below 0.91	57
Most yeasts	Growth inhibition below 0.87	65
Most moulds	Growth inhibition below 0.80	73
Absolute limit of microbial growth	about 0.60	-

A simple linear regression (y = -0,002 x + 0.74) shows a tendency to decrease the a_w-value (B = -0,002) with a very good correlation coefficient (r = 0.96). Using this linear regression, it could be predicted that an amount of 70 % humectants (on the basis of the mould inhibitor calculated, in this case 1.4 kg/ ton silage) would be able to decrease the a_w-value to 0.6 (the absolute limit of microbial growth). However, this approach would need to be confirmed in further studies since the number of samples taken in the present trial was too small and furthermore, such a high level would be considered as unfeasible in foodstuffs.

It can be concluded from these results that the addition of the humectants cited above combined with a mould inhibitor is not suitable for decreasing the a_w-value of feedstuffs at an inclusion level up to 2 % (0.04 g/ ton). Further studies are needed to investigate the effect of the same substances at higher concentrations.

References

Blandamer, M.J., Engberts, J.B.F.N., Gleeson, P.T. and Reis, J.C.R. (2005): Activity of water in aqueous systems; A frequently neglected property. Chem. Soc. Rev. 34: 440-458.

Chaplin, M. (2007): Water structure and science. Website: http://www.lsbu.ac.uk/water/activity.html

Haahr (1998): What's this fuss about *true* randomness? Website: http://www.random.org/cgi-bin/randseq?min=1&max=9

Matsumoto, H., Tokunaga, T. and Hirayama, M. (2001): Effect of dehydrated nystose addition on the reduction of water activity. Food Sci. Technol. Res. 7 (1): 94-98.

Sloan, A.E. and Labuza, T.P. (1976): Prediction of water activity lowering ability of food humectants at high a_w. J. Food Sci. 41 (3): 532-535.

Corresponding author

Dr. Tobias Steiner
Biomin GmbH
Industriestrasse 21, A-3130 Herzogenburg
e-mail: tobias.steiner@biomin.net

Wir danken folgenden Firmen für ihre großzügige Unterstützung:

Alphabetische Reihenfolge

Agrarmarkt Austria
Marketing GesmbH
Dresdner Straße 68a
A-1200 Wien

Agromed Austria GmbH
Bad Haller Straße 23
A-4550 Kremsmünster

Alltech Deutschland GMBH
Poppenbütteler Bogen 84
D-22399 Hamburg

BASF ChemTrade GmbH
Kornfeldgasse 21 g
A-2512 Tribuswinkel

BIOMIN GmbH
Industriestraße 21
A-3130 Herzogenburg

CJ Europe GmbH
Ober der Röth 04
D- 65824 Schwalbach

Delacon Biotechnik
Ges.m.b.H.
Weissenwolffstraße 14
A-4221 Steyregg

DSM Nutritional Products Ltd
P.O. Box 3255
CH-4002 Basel

Dr. Eckel GmbH
Im Stiefelfeld 10
D-56651 Niederzissen

Ecolab GmbH
Erdbergstraße 29
A-1031 Wien

Lohmann Animal Health
GmbH & Co.KG
Heinz-Lohmann-Strasse 4
D-27472 Cuxhaven

Pancosma S.A.
Voie-des-Traz 6
CH-1218 Le Grand-Saconnex

JRS J.Rettenmaier & Söhne
GmbH+Co.KG
Holzmühle 1
D-73494 Rosenberg

H. Willhelm Schaumann
GmbH & Co. KG
Jakob-Fuchs-Gasse 25-27
A-2345 Brunn am Gebirge

Zinpro Animal Nutrition
Gerard Doustraat 4a
NL-5831 CC Boxmeer