



Lättlösliga kolhydrater i vallfoder och i hästens grovtarm

Water soluble carbohydrates in forages and in the equine colon

av

Sofia Fridh

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

Examensarbete 245

**Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Animal Nutrition and Management**

Uppsala 2007



Lättlösliga kolhydrater i vallfoder och i hästens grovtarm

Water soluble carbohydrates in forages and in the equine colon

av

Sofia Fridh

Handledare: Cecilia Müller

**Institutionen för husdjurens
utfodring och vård**

Examensarbete 245

**Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Animal Nutrition and Management**

Uppsala 2007

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

REFERAT	3
INLEDNING	4
LITTERATURSTUDIE	5
KOLHYDRATER	5
LÄTTLÖSLIGA KOLHYDRATER I VÄXTER OCH VALLFODER	7
Inverkan av förtorkning på lättlösliga kolhydrater	8
Inverkan av ensilering på lättlösliga kolhydrater	8
HÄSTARS DIGESTION AV LÄTTLÖSLIGA KOLHYDRATER	9
Munhåla	9
Magsäck	9
Tunntarm	10
Grovtarm	11
FÅNG	11
Orsaker till foderrelaterad fång	12
Överutfodring med lättlösliga kolhydrater	12
Aminer	13
Insulinresistens	13
EGEN STUDIE	14
SYFTE	14
MATERIAL OCH METODER	14
Hästar och försöksupplägg	14
Förtorkad grönmassa	15
Foder	15
Tarmvätska	15
Princip för analys av lättlösliga kolhydrater	15
Beräkningar enligt Larsson & Bengtsson (1983)	17
Statistisk bearbetning	18
RESULTAT	19
Förtorkad grönmassa	19
Vallfoder	19
Tarmvätska	19
DISKUSSION	19
Förtorkad grönmassa	19

Foder	23
<i>Lättlösliga kolhydrater</i>	23
<i>Övriga variabler</i>	24
Tarmvätska	24
<i>Fruktannedbrytning</i>	24
<i>Fruktaner - fång?</i>	25
<i>In vivo – In vitro</i>	26
<i>Inducerad- vs naturlig fång</i>	26
Analysmetoder	27
SLUTSATSER	27
ACKNOWLEDGEMENTS	27
ABSTRACT	29
LITTERATURFÖRTECKNING	30

REFERAT

Syftet med detta arbete var att studera sammansättningen av lösliga kolhydrater (WSC) i vallfoder som konserverats på olika sätt, och WSC i tarmen hos hästar som utfodrats med dessa vallfoder. Hö, hösilage och ensilage skördades under första veckan i juni 2005 och lagrades i ca åtta månader (juni - februari) innan utfodring påbörjades. Vallfodren utfodrades i ett changeover-försök till hästar som provtogs via en fistel i högra ventralkolon.

Förtorkad grönmassa för hö, hösilage och ensilage samt de färdiga fodren, analyserades med avseende på innehåll av WSC (glukos, fruktos, sukros och fruktan), och kemisk sammansättning. Fruktanhalten var lägre i höets förtorkade grönmassa än i den förtorkade grönmassan för ensilage och hösilage. Hos de färdiga fodren hade höet det högsta innehållet av sukros och fruktan. Ensilaget hade det lägsta innehållet av fruktan och hösilaget hade en intermediär fruktanhalt. Det högsta glukosinnehållet återfanns hos hösilaget. Fruktosinnehållet skiljde sig inte åt mellan de olika vallfodren.

Hästarna provtogs via kolonfisteln före (0 h) samt 2, 4, 8 och 12 h efter utfodring, och tarmvätskan analyserades med avseende på WSC-fraktionen. Det fanns inga skillnader i tarmvätskans innehåll av glukos, fruktos, sukros och fruktan då hästarna utfodrades med hö, hösilage eller ensilage. Det fanns inte heller några skillnader i WSC-fraktionen mellan provtagningstidpunkter eller mellan individuella hästar. Generellt sett var WSC-innehållet i tarmvätskan mycket lågt. Slutsatsen av försöket var att innehållet av glukos, fruktos, sukros och fruktan i tarmvätska från hästar inte skiljde sig åt beroende på vilken sorts vallfoder hästarna utfodrades med.

INLEDNING

Vallfoder i form av hö, hösilage och ensilage är en viktig del av den domesticerade hästens foderstat. Mängden lättlösliga kolhydrater (WSC), dvs glukos, fruktos, sukros och fruktan, i växtmaterial beror av många olika faktorer som antalet soltimmar (Mackenzie & Wylam, 1957), växtens utvecklingsfas (Chatterton *et al.*, 2006) och vattenstatus och bördighet i jorden (Shewmaker *et al.*, 2006), för att ge några exempel. Det finns även skillnader i WSC-fraktionen som beror på om fodret konserverats till hö, hösilage eller ensilage. Skillnaderna beror på respiration, hydrolys och fermentation av WSC under förtorkning respektive ensilering (Wylam, 1953; Butler & Bailey, 1973; Lundén Pettersson & Lindgren, 1989; Merry *et al.*, 1995; Müller & Steller, 1995; McDonald *et al.*, 2002). Under förtorkningen sker hydrolys av fruktaner till i huvudsak fruktos (McDonald *et al.*, 2002) och av sukros till glukos och fruktos (Wylam, 1953). När gräs konserveras till ensilage förbrukar mjölksyrabakterier glukos och fruktos och bildar mjölksyra (Wylam, 1953). Vid ensilering bryts sukros och fruktan ner både enzymatiskt och bakteriellt, men även på grund av den sura miljön som uppkommer (Wylam, 1953). Via ensileringen bryts i stort sett all fruktan (Wylam, 1953; Merry *et al.*, 1995) och sukros som fanns i gräset från början ner (Wylam, 1953). Den slutliga totalhalten av WSC i ett välfermenterat, exakthackat ensilage är därför ofta inte högre än 20 g/kg ts, medan hö kan innehålla tio gånger högre totalhalt av WSC (McDonald *et al.*, 2002). Hösilage är ett mellanting av hö och ensilage och fermentationen är begränsad på grund av den högre torrsubstanshalten (ts) i hösilaget. Detta resulterar i mindre mängd bildad mjölksyra, högre pH och mer WSC jämfört med ensilage (Müller & Udén, 2007).

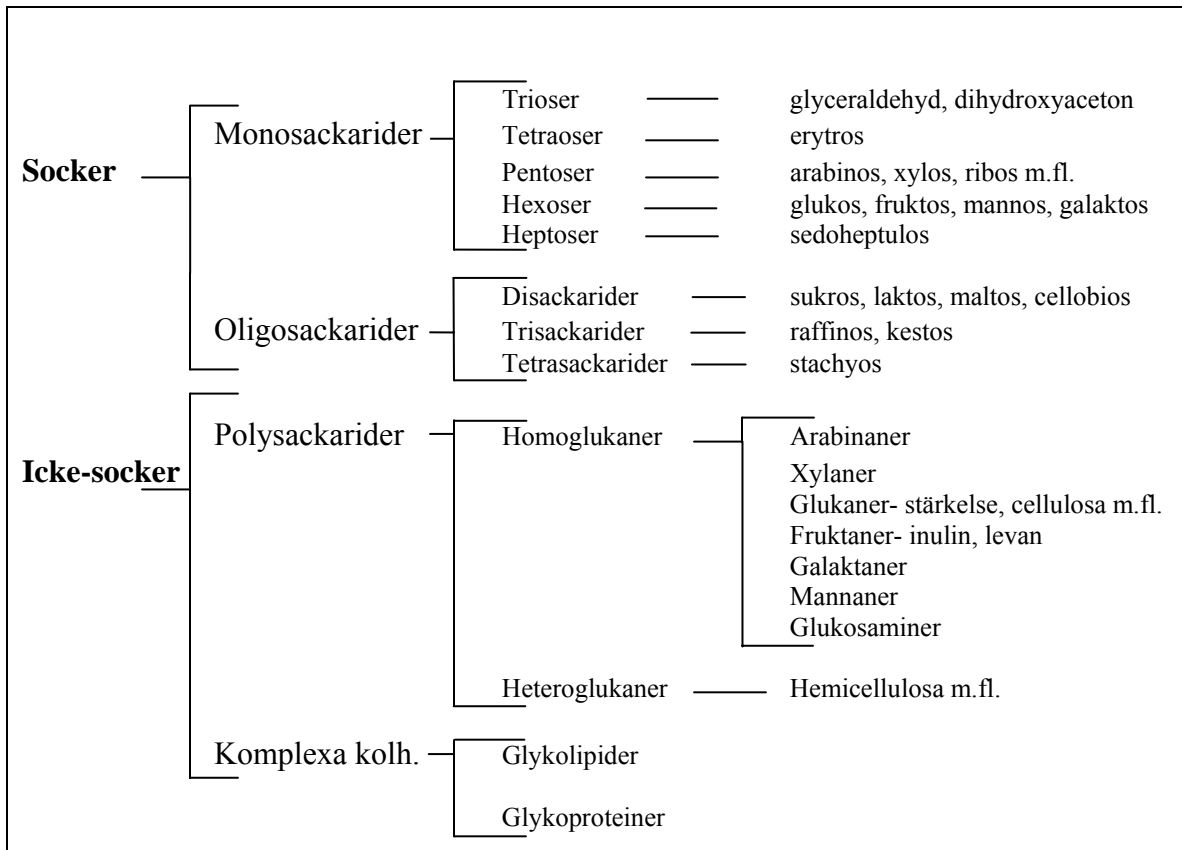
Vad dessa skillnader i WSC-fraktionen i olika vallfoder betyder för digestionen i hästens mag-tarmkanal är inte undersökt. Det kan vara viktig information, då uppkomsten av foderrelaterad fång hos häst kan vara förknippad med ett överintag av WSC (Frape, 2004; van Eps & Pollitt, 2006; Milinovich *et al.*, 2006). Den har tidigare visats att den huvudsakliga digestionen av glukos, fruktos och sukros sker i hästens tunntarm (Roberts, 1975; Dyer *et al.*, 2002), men för fruktaner har det antagits att hästen (Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006), liksom råttan (Nilsson *et al.*, 1988) inte kan bryta ner fruktaner i munhåla, magsäck eller tunntarm. Fruktaninnehållet i fodret skulle då opåverkat nå grovtarmen och där kunna skapa sådana förändringar av mikrofloran att hästen drabbas av fång (Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006). Studier på gris har dock påvisat att mer än 50 % av en oralt tillförd fruktangiva brutits ner innan digestan nått blindtarmen (Böhmer *et al.*, 2005). Även fruktaner i form av kortkedjiga fruktooligosackarider (FOS) som utfodrats till häst, har inte kunnat återfinnas i magsäck eller tunntarm två timmar efter utfodring (Respondek *et al.*, 2005).

Syftet med detta arbete var därför att studera hur halterna av glukos, fruktos, sukros och fruktan påverkades då gräs konserverades som hö, hösilage och ensilage, och om utfodring med de olika vallfodren gav upphov till skillnader i WSC-sammansättningen i kolon hos häst.

LITTERATURSTUDIE

KOLHYDRATER

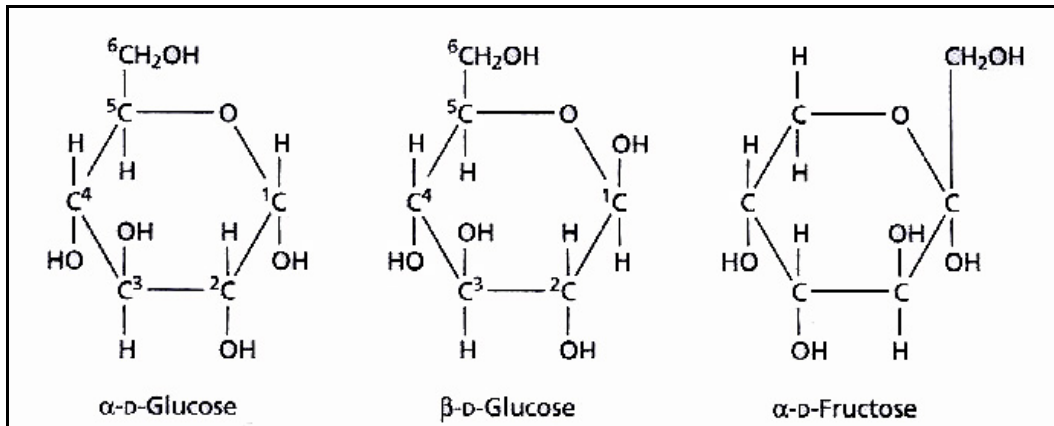
Kolhydrater består av kol, väte och syre, och har den empiriska formeln $(CH_2O)_n$ där n som lägst kan vara tre (McDonald *et al.*, 2002). Den formeln är inte alltid helt korrekt, då många föreningar med kolhydraters egenskaper även innehåller fosfor, kväve och svavel. Kolhydrater kan delas upp i två olika huvudgrupper; socker respektive icke-socker, som i sin tur kan delas upp i flera undergrupper (figur 1).



Figur 1. Klassificering av kolhydrater (McDonald *et al.*, 2002).

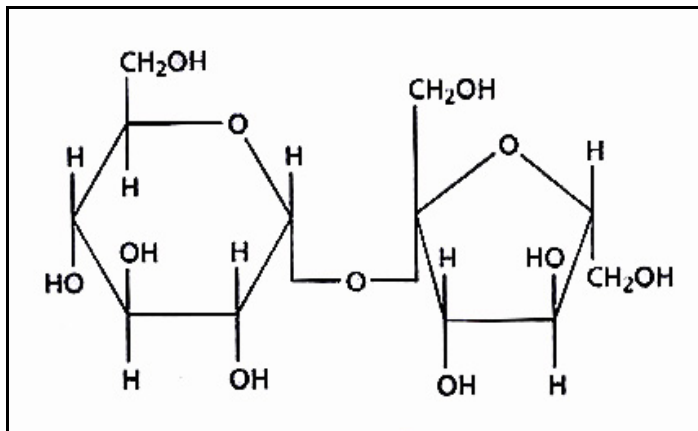
Monosackarider och oligosackarider är undergrupper till socker. Kolhydrater som glukos och fruktos är monosackarider, medan sukros ingår i gruppen oligosackarider. Glukos och fruktos kan existera i raka kedjor och är stereoisomeriska, vilket innebär att deras struktur kan befinna sig i två olika former, vilka är spegelbilder av varandra. De olika formerna kallas för D- och L- form och det är hur OH-gruppen sitter på kolatom 5 som avgör vilken stereoisomerisk form glukos och fruktos har. D-formen är den viktigaste ur biologisk synvinkel. Under fysiologiska förhållanden uppträder dock monosackarider vanligtvis i cykliska strukturer. Dessa strukturer kan uppträda i två isomeriska former, α och β (figur 2). Stärkelse och glycogen är polymerer av α -formen medan cellulosa är en

polymer av β -formen. α -formen kan brytas ned av kroppens egna enzymer, medan β -formen måste brytas ned mikrobiellt (McDonald *et al.*, 2002).



Figur 2. Strukturformler för α - och β -glukos samt α -fruktos (McDonald *et al.*, 2002).

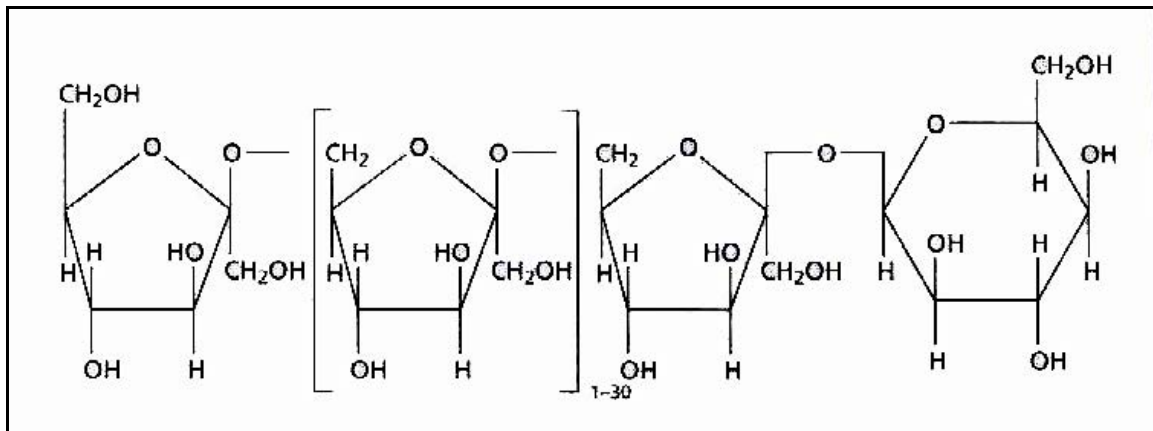
Sukros är en disackarid och består av en glukos- och en fruktosmolekyl som är sammanlänkade med en syrebrygga (figur 3), och fungerar som den huvudsakliga transportformen av kol i växter (McDonald *et al.*, 2002).



Figur 3. Strukturformel för sukros (McDonald *et al.*, 2002).

I gruppen icke-socker är de två huvudgrupperna polysackarider och komplexa kolhydrater. Polysackariderna består av homo- och heteroglukaner. Fruktaner i form av inulin och levan ingår i gruppen homoglukaner (McDonald *et al.*, 2002). Fruktaner syntetiseras i växter från sukros (Müller & Steller, 1995; Cairns *et al.*, 1999). Inulin och levan består mestadels av β -D-fruktosenheter och är de fruktaner som finns i linjär form (Suzuki & Chatterton, 1993). Fruktosenheterna i inulin är sammanlänkade genom β -2,1-bindningar, medan de i levan är sammanlänkade i β -2,6-bindningar (McDonald *et al.*, 2002). Fruktaner kan ha olika polymeriseringsgrad (DP), där fruktan i timotej (*Phleum pratense*) har en högre DP (157) och hundäxing (*Dactylis glomerata*) har en lägre DP (62) (Kühbauch & Kleeberger, 1975). Rajgräs (*Lolium perenne*) har en DP på 26 (Merry *et al.*, 1995). I gräs fungerar fruktaner som ett kolhydratförråd. I spannmål och frukt är

det stärkelse som lagras in som förrådskolhydrat, medan jordärtskocka (*Helianthus tuberosus* L.), cikoriarötter (*Cichorium intybus*) och vitlök (*Allium sativum*) har inulin som lagringskolhydrat (Suzuki & Chatterton, 1993). Levan finns bland annat i gräs (figur 4). Den kemiska nedbrytningen av fruktaner sker genom hydrolys. Det innebär att reaktionen adderar vatten som bildar hydroxylgrupper på bindningspunkterna för varje fruktosenhet (Suzuki & Chatterton, 1993). Vid nedbrytningen av fruktan bildas därför fruktos (Müller & Steller, 1995).



Figur 4. Strukturformel för fruktan vanligen förekommande i gräs (McDonald *et al.*, 2002).

LÄTTLÖSLIGA KOLHYDRATER I VÄXTER OCH VALLFODER

Halten av WSC i växten påverkas bland annat av datum för sådd, skördetidpunkt (Chatterton *et al.*, 2006), vattenstatusen i jorden, bördighet och blad-stjälk förhållande (Shewmaker *et al.*, 2006), kvävenivå i marken (Butler & Bailey, 1973), samt antalet soltimmar; ju mer solljus växten utsätts för, desto mer WSC bildas (Mackenzie & Wylam, 1957). Skuggat gräs har ungefär 50 % lägre innehåll av WSC, jämfört med oskuggat gräs (Lundén Pettersson & Lindgren, 1989). Mängden WSC i gräs ökar under morgontimmarna fram till eftermiddagen, och sjunker därefter tills dagsljus infinner sig nästa dag (Butler & Bailey, 1973). Halterna av WSC beror också på växtart, då exempelvis rajgräs generellt innehåller högre halter av WSC än hundäxing (McDonald *et al.*, 2002).

Även det botaniska utvecklingsstadiet påverkar totalinnehållet av WSC då högre halter av glukos, fruktos och sukros generellt sett återfinns i växter i tidigt utvecklingsstadium (Chatterton *et al.*, 2006). Innehållet av glukos, fruktos och sukros uppgick till ungefär 15 % av ts i unga havreplantor och sjönk till 1-2 % av ts när växten var fullt utvecklad (Chatterton *et al.*, 2006). I blad från rajgräs redovisades halterna av glukos och fruktos som relativt konstanta, mellan 1-2 % av ts, medan halterna i stjälken varierade mellan 3-7 % av ts (Mackenzie & Wylam, 1957). Bladen innehöll mer fruktos än glukos, medan förhållandet var det motsatta i stjälken. Sukroshalten skiljde sig däremot inte speciellt mycket mellan blad och stjälk (Mackenzie & Wylam, 1957). Glukos, fruktos och sukros är de enda lättlösliga kolhydrater som alltid sjunker med plantmognad, medan

fruktaninnehållet ökar (Chatterton *et al.*, 2006). Halterna av fruktan i rajgräs var som högst i september och uppnådde maximalt 21 % av ts i stjälken, medan fruktanhalterna i bladen aldrig steg högre än 4 % av ts (Mackenzie & Wylam, 1957). Hos C3-gräs har fruktanhalterna aldrig uppmätts vara högre i bladen än i stjälken (Longland & Byrd, 2006). Detta beror på att fruktan lagras in i stjälken efter det att plantans behov av energi, syntes av protein och mängden polysackarider för bildande av cellvägg är uppfyllda (Mackenzie & Wylam, 1957). Innehållet av fruktan är generellt sett högre i växter som är i sent utvecklingsstadium (Butler & Bailey, 1973), eftersom andelen stjälk ökar med plantmognaden. Mängden bildad fruktan beror även av sukroskoncentrationen, då mer fruktan kan bildas vid högre sukroshalter (Cairns *et al.*, 1999). Omgivande temperatur kan också påverka fruktaninnehållet, eftersom höga halter har uppmätts under dagar med lägre temperatur (Butler & Bailey, 1973; Chatterton *et al.*, 2006).

Inverkan av förtorkning på lättlösliga kolhydrater

Under torkning av gräs försvinner WSC genom respiration och hydrolys (Lundén Pettersson & Lindgren, 1989; McDonald *et al.*, 2002). På grund av hydrolysen kan fruktoshalten öka då fruktan bryts ner (McDonald *et al.*, 2002). Hydrolys sker även för sukros, men denna stannar upp efter ca två timmar, medan hydrolysen fortsätter för fruktaner (Wylam, 1953). Wylam (1953) fann att 64 % av fruktaninnehållet hade brutits ner då ts-halten, efter åtta dagar, uppgick till 780 g/kg. Nedbrytningen av fruktaner sker snabbare under fuktiga än under torra förhållanden (Wylam, 1953).

Inverkan av ensilering på lättlösliga kolhydrater

Fruktos och glukos är de huvudsakliga substraten i gräs som ensileras (Müller & Steller, 1995; McDonald *et al.*, 2002). Vid höga koncentrationer av WSC finns förutsättningar att mjölksyrabakterier ska kunna tillväxa och fermentera WSC till mjölksyra (Butler & Bailey, 1973). Innehållet av WSC bryts ner snabbt vid ensilering (Lundén Pettersson & Lindgren, 1989). I ensilage bryts sukros och fruktan ner dels enzymatiskt och bakteriellt, dels på grund av den sura miljön som uppkommer (Wylam, 1953). Merry *et al.* (1995) påvisade att fruktaner degraderades vid pH 6 i bakteriefri grönmassa. Beroende på mängden tillgänglig fri glukos och fruktos, används den bildade fruktosen också av mjölksyrabakterier under ensileringen (McDonald *et al.*, 1991).

Nedbrytningen av fruktaner i kontrollensilage, och i ensilage inokulerat med *Lactobacillus paracasei*, påvisades vara snabb under de första fyra ensileringsdagarna, medan hastigheten därefter saktade ner (Merry *et al.*, 1995). Inokulering med *L. plantarum* gav betydligt lägre nedbrytningshastigheter än inokulering med *L. paracasei*. Detta innebär att olika grupper av mjölksyrabakterier degraderar fruktaner med olika hastighet och i olika stor utsträckning. När bakterier saknades i ensilaget bröts fruktaner ändå ner, men i en betydligt lägre hastighet än när bakterier fanns närvarande (Merry *et al.*, 1995).

Kühbauch & Kleeberger (1975) undersökte inverkan av fruktaners polymeriseringsgrad på nedbrytningshastigheten. Bakterier isolerade från ensilagepressvätska tillsattes till fruktaner från timotej och hundäxing. Fruktan från timotej hade högre molekylvikt och högre polymeriseringsgrad än fruktaner från hundäxing. Ungefär 30 % av fruktanerna med låg polymeriseringsgrad förbrukades inom en period på 8 h, medan fruktaner med högre polymeriseringsgrad började brytas ner först efter 12 h. Alla fruktaner var helt förbrukade av mikroorganismerna inom en period av 20 till 28 h (Kühbauch & Kleeberger, 1975).

Möjligheten för bakterier att bilda mjölksyra från fruktan i gräs inom 48 h var lägre jämfört med glukos, men högre jämfört med inulin (Müller & Lier, 1994). Fruktaner i gräs fermenterades oftast intensivare än inulin, vilket indikerades av ett lägre pH och en högre mjölksyrakoncentration. Endast 16 av 712 linjer av mjölksyrabakterier isolerade från gräs kunde fermentera fruktaner inom 48 h. Av de 16 linjerna var det bara åtta som kunde fermentera fruktaner av typen inulin (Müller & Lier, 1994).

HÄSTARS DIGESTION AV LÄTTLÖSLIGA KOLHYDRATER

Processerna som sker vid digestion kan delas upp i mekaniska, kemiska och mikrobiella. Den mekaniska processen utgörs av tuggning och kontraktioner i digestionskanalen. Den huvudsakliga kemiska nedbrytningen av födan utförs av enzymer i olika digestionsvätskor som utsöndras av djuret. Den mikrobiella digestionen utförs av bakterier, protozoer och svampar, som i första hand lever i grovtarmen hos hästen (McDonald *et al.*, 2002).

Munhåla

Digestionen startar i munhålan, där födan bearbetas mekaniskt och blandas med saliv. Hästens saliv, i jämförelse med många andra djurslag, innehåller ingen α -amylas, varvid ingen kemisk nedbrytning av stärkelse sker i munhålan. Inte heller WSC antas brytas ner av saliven. Dock innehåller saliven bikarbonat, HCO_3^- , som buffrar födan (McDonald *et al.*, 2002; Frape, 2004). En normalstor häst producerar 10 till 30 l saliv per dygn och produktionen styrs av att fodret fysiskt stimulerar munhålan (Björnhag, 2000).

Magsäck

Hästens magsäck är liten och omfattar endast cirka 10 % av digestionskanalen, varför hästen bör äta ofta men i små mängder. På detta vis regleras flödet till tunntarmen så att födan transporteras i jämn takt. Födan som kommer till magsäcken stannar där i 2-6 h (McDonald *et al.*, 2002; Frape, 2004). Vid kraftfoderbaserade dieter har fodret den längre uppehållstiden i magsäcken (Björnhag, 2000), och en begränsad mikrobiell fermentation sker då i den körtelfria delen av magsäcken (McDonald *et al.*, 2002; Frape, 2004). Antalet totala anaeroba bakterier är högst i magsäcken, jämfört med jejunum, ileum och grovtarmskomplexet (de Fombelle *et al.*, 2003). Laktobaciller, streptokocker och

laktatutnyttjande bakterier finns i störst utsträckning i magsäcken och tunntarmen, vilket innebär att nedbrytning av snabbt fermenterbara kolhydrater kan ske redan där. Halterna av mjölksyra har också påvisats vara högre i magsäck och tunntarm, jämfört med grovtarmskomplexet (de Fombelle *et al.*, 2003).

I den del av magsäcken det finns körtlar produceras väteklorid (HCl), vilket gör att födans pH sänks till ungefär 2,5 (McDonald *et al.*, 2002). Vid högt kraftfoderintag stannar pH på omkring 5 (Björnhag, 2000). Att pH i födan blir högre vid kraftfoderutfodring beror på att hästens magsaftssekretion inte styrs av betingade reflexer. Magsaften utsöndras då foder fyllt ut magsäcken och stimulerat körtlarna mekaniskt och kemiskt. Kraftfoder, i jämförelse med grovfoder, upptar inte lika stor volym, vilket innebär att inte lika stor stimulans av körtlarna sker. Detta leder till att sekretionen av HCl fördröjs. En viss magsaftssekretion sker dock ständigt. Magsaften består framförallt av HCl och proteinspjälkande enzymer. Dessa ämnen i magsaften är inaktiva vid utsöndringen, men aktiveras i sur miljö (Björnhag, 2000).

Tunntarm

Passagehastigheten genom tunntarmen är snabb och en del av födan kan nå blindtarmen redan efter 45 minuter (Björnhag, 2000; Frappe, 2004). Trots den snabba transporten sker betydande digestion. I tunntarmen sker den huvudsakliga digestionen och absorptionen av glukos, fruktos och sukros (Roberts, 1975; Dyer *et al.*, 2002), men även av protein och fett (Björnhag, 2000; Frappe, 2004). Nedbrytning av glukos, fruktos och sukros sker i större utsträckning i jejunum och ileum än i magsäcken (Varloud *et al.*, 2004). WSC och stärkelse utsätts i tunntarmen för amylas från tolvfingertarmen och α -glukosidas som utsöndras från mikrovillimembranens yta i tarmväggen. Detta leder till nedbrytning av stärkelse respektive sukros, som omvandlas till monosackarider (McDonald *et al.*, 2002). Glukos absorberas genom aktiv transport via tarmväggens celler och når med hjälp av blodomloppet levern (McDonald *et al.*, 2002). Transporthastigheten genom tarmväggen är för glukos högst i duodenum, lägre i jejunum och lägst i ileum (Dyer *et al.*, 2002).

Sukros hydrolyseras snabbt av sukras, som är ett disackaridenzym som sitter på mikrovilli i tunntarmen (Roberts, 1975). Sukras konverterar sukros till en glukosmolekyl och en fruktosmolekyl (McDonald *et al.*, 2002) och produkterna absorberas snabbt (Roberts, 1975). Enzymet sukras finns uttryckt i hela tunntarmen men aktiviteten är större i duodenum och jejunum, som är likvärdiga, än i ileum (Dyer *et al.*, 2002). Förutom enzymet sukras kan även svaga syrur hydrolysera sukros (McDonald *et al.*, 2002).

Det råder diskussion om hur fruktaner digererar i hästens mag-tarmkanal. Kortkedjiga fruktooligosackarider (FOS) som utfodrats till hästar kunde ej återfinnas i magsäcken eller tunntarmen två timmar efter utfodring (Respondek *et al.*, 2005). Möbeler *et al.* (2005) påvisade också (via fermentativa gaser i utandningsluften) att inulin som gavs oralt till hästar började fermenteras tidigt i mag-tarmkanalen. Prover på utandningsluften togs före och efter utfodring i intervaller om 30 min under tio timmar, och det visade sig att vätgas producerades tidigt i utandningsluften, eftersom halten höjdes redan efter 60

minuter. Detta betydde att mikrobiell fermentation skett, då vätgasen antogs ha producerats av bakterierna (Möbeler *et al.*, 2005).

Hos människa har påvisats att fruktaner med låg molekylvikt fermenteras redan av orala mikroorganismer, och även av mikroorganismer i kolon (Nilsson *et al.*, 1988). Hos gris var mer än hälften av den tillförda fruktanmängden, i form av inulin, nedbruten innan digestan nått blindtarmen (Böhmer *et al.*, 2005), medan försök med råttor resulterade i mycket liten nedbrytning och upptag av fruktan från spannmål i tunntarmen (Nilsson *et al.*, 1988).

Grovtarm

I hästens blindtarm och kolon sker den huvudsakliga mikrobiella fodernedbrytningen (Björnhag, 2000). Grovtarmens slemhinna bildar nämligen inga digestionsenzymer som kan bryta ner födan (Frape, 2004). Födan stannar i blindtarmen ca 15-20 h, och i kolon ca 18-24 h. Den långa tiden är nödvändig för att mikroorganismerna ska hinna bryta ner fodret. Fiberrika material som cellväggskolhydrater fermenteras till 75-85 % av mikrober i grovtarmen (McDonald *et al.*, 2002). De bildade flyktiga fettsyror (VFA); ättiksyra, propionsyra och smörsyra, absorberas direkt genom tarmväggen (Björnhag, 2000). Att den huvudsakliga nedbrytningen av fiberrika material sker i grovtarmen har åskådliggjorts av bl.a. de Fombelle *et al.* (2003), som visade att koncentrationen av VFA och cellulolytiska bakterier var betydligt högre i grovtarmen än i magsäcken och tunntarmen. Innan VFA upptas buffras de med vätekarbonat från tunntarmens tarmsaft samt vätefosfat direkt från blodet (Björnhag, 2000; Frape, 2004). Fettsyror produceras generellt i proportionerna 70 % ättiksyra, 20 % propionsyra respektive 10 % smörsyra, men beror av foderstatens sammansättning (Björnhag, 2000). Vid höga intag av stärkelse ökar andelen propionsyra (Frape, 2004). De bildade fettsyror används som energikälla av hästen (Björnhag, 2000). Innan fodret lämnar hästen i form av träck, har praktiskt taget all stärkelse och socker tagits upp (Varloud *et al.*, 2004).

Hästar som mestadels ätit grovfoder har normalt ett pH-värde på 6,5 i grovtarmen. Som tidigare nämnts kan stärkelse nå grovtarmen, framför allt blindtarmen, och orsakar då en pH-sänkning. Det sänkta pH-värdet beror på att mjölksyra bildas. Då stora mängder stärkelse når grovtarmen kan mjölksyra ansamlas, vilket i värsta fall kan leda till att mikroorganismer dör och tarmslemhinnan skadas. Om överproduktionen av mjölksyran resorberas genom den skadade tarmslemhinnan kan hästen drabbas av acidosis. pH i kroppen sänks då, vilket leder till störningar i hästens blodcirkulation. Detta kan slutligen innebära cirkulationskollaps och att hästen dör (Björnhag, 2000).

FÅNG

Hästar, men även andra djurslag såsom kor, kan drabbas av sjukdomen fång. Fång kan vara relaterat till utfodring och uppkommer i samband med någon störning i digestion och/eller metabolism. Överintag av WSC förknippas med fång, både via kraftfoder och

gräs (Frape 2004). De första kliniska symptomen på fång är hälta, ökad digital puls och varma hovar. Om inte snabba åtgärder sker kan cellskador och inflammation i vävnaderna som sammanbinder hovbenet med hovkapseln uppstå, vilket slutligen kan leda till rotation av hovbenet och kronisk hälta (Robinson, 2003; Elliott & Bailey, 2006).

Orsaker till foderrelaterad fång

Det finns många hypoteser kring den egentliga orsaken till fång. Konsumtion av stora kvantiteter kolhydrater i form av stärkelse eller oligofruktos (OF) har visat sig leda till fång (Garner *et al.*, 1977; Rowe *et al.*, 1994; Bailey *et al.*, 2003; Frape 2004; Thoenes *et al.*, 2004; Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006). Överkonsumtion av WSC och stärkelse kan inträffa hos hästar på näringsrikt bete (Robinson, 2003; Harris, 2005) respektive hos hästar som intar stora mängder kraftfoder (Harris, 2005). Specifika raser såsom Morganhästen, Europeiska varmblod och American saddlebreds anses enligt Harris (2005) också vara mer disponibla för att drabbas av fång, medan Engelska fullblod löper lägre fångrisk (Alford *et al.*, 2001). Hästar som har spån som strömedel, har drabbats av fång då bark från svart valnöt (*Juglans nigra*) hamnat i spånet vid tillverkningen (Harris, 2005). Hästar i åldern fem till sju år samt 13 till 31 år, ston (Alford *et al.*, 2001) och feta hästar löper också större risk att drabbas av fång (Frape, 2003).

Överutfodring med lättlösliga kolhydrater

Fång förknippas med en ökning av antalet laktobaciller och streptokocker i hästens grovtarm, vilka bildar mjölksyra som i sin tur sänker pH-värdet där (Bailey *et al.*, 2003). Samma förändring sker i grovtarmen vid överutfodring av stärkelse. Större mängder stärkelse eller inulin som tillsattes *in vitro* till tarminnehåll från hästar, resulterade i en höjning av antalet streptokocker och laktobaciller över en 24 h period (Bailey *et al.*, 2003). Vissa av dessa streptokocker kan producera exotoxiner, vilka skulle kunna påverka strukturer i hästhoven och orsaka fång (Mungall *et al.*, 2001). Det har även påvisats i försök utförda *in vivo* att pH-värdet i tarmen sjunker och mjölksyrhalten ökar, då hästar utfodrats med stora mängder stärkelse (Rowe *et al.*, 1994; Medina *et al.*, 2002). *Saccharomyces cerevisiae* som tillförts oralt i samband med ett överintag av stärkelse *in vivo*, påvisades reducera pH-sänkningen och ökningen av mängden mjölksyra i grovtarmen (Medina *et al.*, 2002). Även tillsats av virginiamycin i fodret vid överintag av stärkelse *in vivo* har påvisats minska fångsymptomen (Rowe *et al.*, 1994), och motverka pH-sänkning i träcken (Rowe *et al.*, 1994; Bailey *et al.*, 2002).

Det har påvisats att fruktaner från spannmål, som getts oralt till råttor i form av 30 mg/utfodringstillfälle, har gått opåverkade genom magsäck och tunntarm till grovtarmen (Nilsson *et al.*, 1988). Det har därför antagits att fruktaner inte bryts ner i tunntarmen hos hästar utan passerar till grovtarmen och skapar störningar i tarmfloran (Robinson, 2003; Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006). Fruktaner i hästfoder skulle därför kunna vara en orsak till fång, och OF i stora doser har använts för att i försök inducera fång (Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006). Arton friska hästar uppdelade på

3 grupper fick inta olika halter av OF upplöst i kranvatten, eller enbart kranvatten som kontroll. Den OF som användes i försöket var utvunnen från inulin från cikoriarötter och hade en polymeriseringsgrad på 2 till 7 (Orafti, 2007). Sex hästar fördelade två och två fick antingen 7,5, 10 eller 12,5 g OF/kg kroppsvikt. Resterande 12 hästar delades upp i 2 grupper och fick antingen 10 g OF/kg kroppsvikt eller kranvatten. Alla hästar som intagit OF i olika koncentrationer drabbades av fång inom 24 till 44 h. Ingen av kontrollhästarna visade symptom på fång. I ett annat försök, då 5 försökshästar fick 10 g OF/kg kroppsvikt, drabbades alla hästar av fång inom 24 till 36 h (Milinovich *et al.*, 2006). Även 4 av 6 mjölkkor som fått OF i samma doser uppvisade fång inom 39 till 45 h (Thoefner *et al.*, 2004). Alla individer som fått OF hade högre laktatkoncentrationer i plasman och lägre pH i träcken än kontrollhästarna (Van Eps & Pollitt, 2006). Höjda laktatnivåer i plasman hos hästar med fång har påvisats tidigare (Garner *et al.*, 1977).

Aminer

Aminer är, liksom protein och nukleinsyror, kväveinnehållande föreningar och återfinns i små mängder i de flesta växter och djurvävnader (McDonald *et al.*, 2002). I ensilage där klostridier dominerat fermentationen återfinns märkbara halter av aminer (McDonald *et al.*, 2002). Vissa typer av laktobaciller och streptokocker kan också producera en eller flera aminer genom dekarboxylering av aminosyror. Några av dessa aminer, exempelvis histamin och tryptamin, har vasoaktiva egenskaper och kan vid absorption eventuellt orsaka en cirkulationsstörning genom förändringar i blodflöde (Bailey *et al.*, 2002; Elliott & Bailey, 2006). Detta skulle kunna bidra till uppkomsten av fång (Elliott & Bailey, 2006) då vasokonstriktion av blodkärl, möjligen på grund av en inflammatorisk stimuli, kan orsaka skada i lamellstrukturen i hästens hovar (Bailey *et al.*, 2004).

Vid tillsats av stärkelse eller inulin till tarminnehåll *in vitro* påvisades att koncentrationen av vissa aminer, samt streptokocker och laktobaciller, ökade med de tillsatta kolhydraterna (Bailey *et al.*, 2003). Tillsats av virginiamycin (1 mg/100ml) *in vitro* inhiberade ökningen av antalet streptokocker med ungefär 98 %, och av antalet laktobaciller med 97-98 %. Detta innebar att även ökningen av aminer inhiberades. När inulin eller stärkelse tillsattes till tarminnehållet sjönk pH-värdet över en 24 h period, och inulin orsakade en snabbare pH-sänkning än stärkelse. Tillsats av virginiamycin (1 mg/100ml) eller kalcium hydrogenfosfat (CaHPO₄) inhiberade pH-sänkningen, men i motsats till virginiamycin hade CaHPO₄ inte någon effekt på aminbildningen (Bailey *et al.*, 2002).

Insulinresistens

Fång associeras också med insulinresistens hos hästar (Kronfeld, 2005; Longland & Byrd, 2006). Med insulinresistens menas att den bildade glukosen från digestionen inte tas upp intracellulärt, då insulin är delvis eller helt ineffektivt (Hoffman, 2003; Kronfeld, 2005). Insulinresistens påverkas av fodertyp, hästens kropps-kondition, aktivitetsgrad, om infektion föreligger samt exponering för endotoxiner (Kronfeld, 2005). Feta hästar löper

större risk att drabbas av insulinresistens än hästar i normal kroppskondition (Hoffman *et al.*, 2003). Hästar löper även högre risk att utveckla insulinresistens när de äter ett kraftfoderbaserat foder med höga halter av socker och stärkelse. För att minska riskerna för insulinresistens kan därför socker och stärkelse bytas ut mot fett och fiber som energikälla (Kronfeld, 2005).

EGEN STUDIE

SYFTE

Syftet med denna studie var att undersöka inverkan av olika konserveringsmetoder på WSC-fraktionen i vallfoder, samt om utfodring med de olika vallfodren påverkade sammansättningen av WSC-fraktionen i kolon hos hästar.

MATERIAL OCH METODER

Materialet i försöket utgjordes av frysta tarmvätskeprover från fyra Europeiska varmblodshästar. Hästarna (A1 – A4) hade fistlar placerade i caecum och i högra ventralkolon, men enbart prov från kolon användes i studien. Prover från förtorkad grönmassa och från det foder hästarna utfodrades med ingick också. Vallfodret (hö, hösilage och ensilage) skördades första veckan i juni 2005 vid Kungsängens forskningscentrum, SLU, Uppsala. Grödan kom från en permanent vall bestående av 55 % timotej, 30 % ängssvingel, 10 % kvickrot (*Agropyron repens*) och ca 5 % maskrosor (*Taraxacum vulgare*). Denna studie är en del av ett större försök (Müller & Udén, 2007).

Hästar och försöksupplägg

Hästarna (medelvikt 475 kg, SD 4,4 kg) var vid försöket kliniskt friska med normal tandfunktion. De avmaskades 15 dagar innan försöksstart med Bimectinpasta (Ceva). Sågspån utgjorde strömedel. Hästarna utfodrades med antingen hö, ensilage eller hösilage under försöksperioden (tabell 1) och åt dagligen 1,03 – 1,10 kg ts/100 kg kroppsvikt, oavsett foder. Provtagning gjordes två dagar på rad i varje period (dag 9 och 10 eller 16 och 17). Proverna togs innan utfodring (0 h), samt 2, 4, 8 och 12 h efter utfodring.

Tabell 1. Försöksdesign

Period	A1	A2	A3	A4
Period I	hösilage	ensilage	hösilage	ensilage
Period II	hö	hö	hö	hö
Period III	ensilage	hösilage	ensilage	hösilage

Förtorkad grönmassa

Tre prover från vardera förtorkade grönmassa, totalt nio prov, analyserades med avseende på glukos, fruktos, sukros, fruktan, total WSC och ts. Proverna togs slumpmässigt utspritt över fältet, strax före pressning av respektive foder, vilket skedde 28 h efter slåtter för ensilage, efter 49 h för hösilage och efter 72 h för hö. Ett prov bestod av gräs taget från tre olika ställen på fältet.

Bestämning av ts gjordes genom torkning i värmeskåp under 20 h i 55°C. Därefter stod proverna i rumstemperatur under 24 h för ekvibrering med luftens fuktighet. Proverna maldes därefter i en hammarkvarn med 1,0 mm såll och sluttorkades i 103°C under 20 h. Mängden WSC bestämdes enligt Larsson & Bengtsson (1983). Råprotein (RP) bestämdes enligt Kjeldahl-metod, med koppar som katalysator ($RP = N \cdot 6,25$). Neutral Detergent Fiber (NDF) bestämdes exklusive aska med natriumsulfit och amylas, enligt Chai & Udén (1998).

Foder

Prover på det färdiga fodret togs strax före utfodring av hästarna under provtagningsdagarna. Totalt analyserades tio prov, varav två från hö, fyra från hösilage och fyra från ensilage. Foderproverna preparerades på samma sätt som grönmasseproverna. Förutom glukos, fruktos, sukros, fruktan, total WSC och ts, gjordes ytterligare analyser för dessa prover; pH-värden mättes med pH-meter (Metrohm 654) med standardelektrod, som kalibrerats med lösningar för pH 4 och pH 7. Organiska syror, etanol och 2,3-butandiol analyserades med HPLC (High Performance Liquid Chromatography) enligt Andersson & Hedlund (1983). pH, organiska syror och alkoholer analyserades på pressvätska, som extraherades genom spädning av proverna 1:1 med destillerat vatten, och därefter pressades med en hydraulisk press.

Tarmvätska

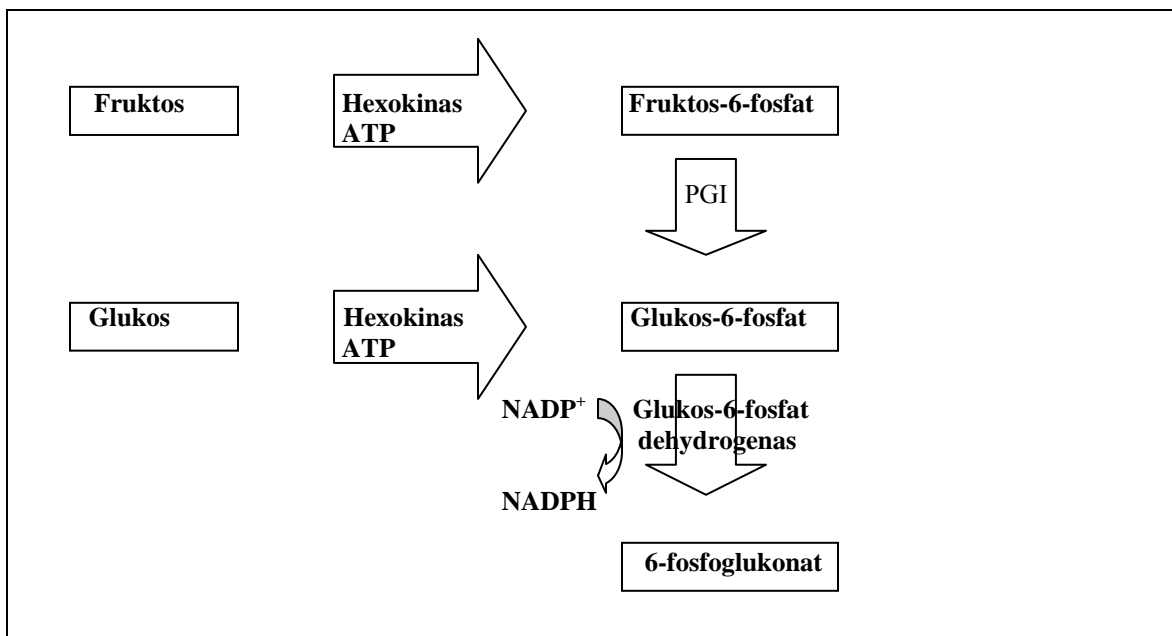
I samband med provtagning av hästarna filtrerades tarmvätskan (Blutex 100 µm) och placerades i frys (-18°C). Inför analysen tinades tarmvätskan upp i ett kallt vattenbad tills allt innehåll var i vätskefas. Därefter skakades proverna för att få en homogen blandning och överfördes till eppendorfrör, vilka centrifugerades vid 16000 G i fem minuter. 50 µl av supernatanten späddes med 4950 µl kylskåpskall acetatbuffert, vilket gav en spädning på 100 gånger. Från denna spädning togs två olika prov ut för att bestämma dels fri glukos och fruktos, dels sukros och fruktan, enligt Larsson & Bengtsson (1983).

Princip för analys av lättlösliga kolhydrater

I Larsson & Bengtssons (1983) metod mäts WSC i växtmaterial indirekt genom spektrofotometri. Det är inte kolhydraterna i sig som mäts, utan mängden bildad NADPH

från NADP^+ (nikotinamidadenindinukleotidfosfat). För att överhuvudtaget kunna mäta NADPH så måste flera steg ske. Glukos i provet måste först fosforlyseras till glukos-6-fosfat (G-6-P). Detta sker då man tillsätter adenosintrifosfat (ATP) och hexokinas till provet med växtmaterial. Hexokinas fosforlyserar glukos till G-6-P med ATP som fosfatdonator och magnesiumjoner som aktivator. G-6-P oxideras därefter av (till provet tillsatt) NADP i närvaro av enzymet glukos-6-fosfatdehydrogenas (G6P-DH) 6-fosfoglukonat. NADP reduceras då till NADPH som har ett absorptionsmaximum vid 340 nm och därför kan åskådliggöras vid denna våglängd. Den bildade mängden NADPH är ekvivalent med den mängd glukos som fanns i provet från början.

Hexokinas är inte ett specifikt enzym för glukos utan fungerar på samma sätt även för fruktos för att bilda fruktos-6-fosfat (F-6-P) (Holme & Peck, 1998). Därefter måste dock enzymet fosfoglukosisomeras (PGI) tillsättas (Larsson & Bengtsson, 1983). PGI gör att F-6-P övergår till G-6-P, och därifrån sker samma reaktioner som beskrivningen för glukos. Genom denna metod kan även mängden sukros mätas, då sukros består av en glukos- och en fruktosmolekyl. Likaså kan även fruktaninnehållet mätas, då fruktaner består av fruktoskedjor med en sukrosenhet i ena änden (McDonald *et al.*, 2002). De olika stegen åskådliggörs i figur 5.



Figur 5. Principen för enzymatisk analys av fruktos och glukos enligt Larsson & Bengtsson (1983).

Följande preparering av proverna gjordes för att spektrofotometriskt kunna mäta absorptionserna och beräkna fri glukos och fruktos. 1,00 ml trietanolaminbuffert (TEAB), 1,90 ml vatten, 0,10 ml NADP, 0,10 ml ATP och 0,10 ml prov (tarmvätska) pipetterades, med hjälp av dispenser, ner i en kyvett och blandades. Därefter mättes absorbansen (E_1) för de olika proverna, samt ett nollprov innehållande vatten, vid 340 nm. 0,02 ml hexokinas/G6P-DH tillsattes i varje kyvett och blandades varvid absorbansen (E_2) mättes när 15 min gått. Slutligen tillsattes 0,02 ml PGI i varje kyvett som blandades om, fick stå

i 15 min varvid absorbanzen (E3) återigen mättes för de olika proven. Även två kontrollprov, det vill säga tarmvätska innehållande en känd mängd tillsatta WSC, samt två blankprover innehållande acetatbuffert, behandlades på samma sätt.

Sukros och fruktan bestämdes på följande sätt. Från våra spädda prov (se ovan) togs 0,200 ml ut och blandades med 0,200 ml 0,074M H₂SO₄ med hjälp av dispenser och placerades i små plaströr med skruvkork. Därefter ställdes rören i ett 80°C vattenbad i 70 minuter, för att därefter kylas ner i ett vattenbad innehållande kallt vatten. Därefter upprepades bestämning av absorbanterna (E1-E3) som beskrivits för fri glukos och fruktos. Även i detta fall analyserades två kontrollprov och två blankprover.

Som kontrollprov användes en acetatbuffertlösning innehållande 5 % fruktos och 5 % sukros, som därefter blandades med lika delar tarmvätska innan centrifugering. Efter spädningen 1:1, kom kontrollprovet att innehålla 2,5 % vardera av både fruktos och sukros.

För att kontrollera metoden för att analys av fruktaner i tarmvätska löstes inulin från dahliarötter (*Dalia cultorum*) upp i tarmvätska. Mängden 3,000 g inulin löstes först upp i 75°C acetatbuffert och späddes med bufferten till en volym av 100 ml, vilket gav en 3 % lösning. Tarmvätskan tinades och centrifugerades på samma sätt som för tarmvätskeproverna. Supernatanten späddes därefter 100 gånger med acetatbufferten innehållande inulin. Från denna spädning togs tre prov där slutbestämningar av fri glukos, fruktos, sukros och fruktan bestämdes enligt ovan. Utbytet för fruktaner uppmättes till ungefär 82,2 %.

Beräkningar enligt Larsson & Bengtsson (1983)

$$\Delta E_{\text{glukos}} = (E_2 - E_1)_{\text{prov}} - (E_2 - E_1)_{\text{nollprov}}$$

$$\Delta E_{\text{fruktos}} = (E_3 - E_2)_{\text{prov}} - (E_3 - E_2)_{\text{nollprov}}$$

ΔE_{glukos} och $\Delta E_{\text{fruktos}}$ sätts in i uttrycket

$$c = (V * MV * \Delta E) / (\epsilon * d * v * 1000)$$

där c = koncentrationen kolhydrat i den provlösning som pipetterats i kyvetten uttryckt i mg/ml.

V = slutvolym i kyvetten (ml)

v = tillsatt provvolym (ml)

MV = molekylvikten för glukos respektive fruktos = 180,16

d = strålgång i kyvetten (cm) = 1

ϵ = molära absorbtiviteten för NADPH vid 340 nm = 6,3

Genom att multiplicera koncentrationerna ovan med extraktionsvolymen, i vårt fall en spädfaktor på 100, erhålls fri glukos respektive fri fruktos uttryckt i mg/ml.

Beräkning av sukros och fruktan gjordes enligt följande. ΔE -värdena för det hydrolyserade extraktet sattes in i den ovannämnda formeln. Efter att ha korrigerat för spädningen då extraktet blandades med svavelsyran kan mängden glukos och fruktos efter den sura hydrolysen bestämmas. Därefter kan mängden sukros beräknas som:
 Glukos efter hydrolys – fri glukos = mängden glukos från sukros; glukos från sukros * (342,32/180,16) = sukros i tarmvätskan (mg/ml)

Mängden fruktan beräknas enligt följande:

Fruktos efter hydrolys – fri fruktos – glukos från sukros = fruktos från fruktan; fruktos från fruktan * (162,16/180,16) = fruktan i tarmvätska (mg/ml)

Statistisk bearbetning

Variansanalys utfördes i SAS med GLM procedur (SAS Institute 6.12, SAS Inc. USA). Resultat där $P < 0,05$ betraktades som signifikant skilda.

Den statistiska modell som användes var följande:

$$Y_{ijkl} = \mu + (\text{häst})_i + (\text{tidpunkt})_j + (\text{foder})_k + (\text{häst} * \text{tidpunkt})_{ij} + (\text{häst} * \text{foder})_{ik} + (\text{tidpunkt} * \text{foder})_{jk} + (\text{error})_{ijkl}$$

RESULTAT

Förtorkad grönmassa

Den förtorkade grönmassan för hö hade lägre fruktanhalt än förtorkad grönmassa för ensilage och hösilage. Torrsubstanshalten för ensilagens grönmassa var lägre än både höets och hösilagens grönmassa, (tabell 2).

Tabell 2. Kemisk sammansättning av förtorkad grönmassa (gm), g/kg ts om inte annat anges

Variabel	gm-hö	gm-hösilage	gm-ensilage	SEM	P-värde
Torrsubstans g/kg	647 ^a	568 ^a	428 ^b	25,9	0,003
Glukos	33,0	35,8	32,1	2,96	0,67
Fruktos	30,2	36,6	29,8	3,24	0,32
Sukros	50,6	59,2	46,7	3,84	0,14
Fruktan	15,4 ^a	32,8 ^b	34,1 ^b	4,32	0,04
Lättlösliga kolhydrater (WSC)*	129,2	164,5	142,7	10,33	0,13
Råprotein (RP)	156	156	156	9,4	1,00
Neutral Detergent Fiber (NDF)	486	456	497	12,9	0,15

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma rad anger signifikant skillnad vid det angivna P-värdet.

* Beräknad totalhalt av lättlösliga kolhydrater.

Vallfoder

Höet hade det högsta innehållet av ts, sukros och fruktan, det högsta pH-värdet och lägst innehåll av ättiksyra och etanol. Hösilaget hade högst innehåll av glukos, medan halterna av ts, fruktan, ättiksyra och etanol liksom pH-värdet var intermediärer mellan hö och ensilage. Ensilaget hade högst koncentration av bärnstenssyra, mjölksyra, ättiksyra, 2,3-butandiol och etanol, medan ts, fruktan och pH var lägst jämfört med hö och hösilage, (tabell 3).

Tabell 3. Kemisk sammansättning av foder, g/kg ts om inte annat anges

Variabel	Hö	Hösilage	Ensilage	SEM	P-värde
Torrsubstans g/kg	83,1 ^a	54,7 ^b	32,7 ^c	1,27	< 0,0001
Glukos	41,6 ^a	56,8 ^b	33,5 ^a	4,98	0,007
Fruktos	41,8	60,1	31,3	9,52	0,052
Sukros	16,9 ^a	8,1 ^b	7,7 ^b	2,29	0,028
Fruktan	12,9 ^a	5,4 ^b	3,3 ^c	2,52	0,046
Lättlösliga kolhydrater (WSC)*	113,3 ^{a,b}	130,3 ^b	75,8 ^a	15,08	0,0234
pH	6,02 ^a	5,60 ^b	4,44 ^c	0,095	< 0,0001
Bärnstenssyra	< 0,1 ^a	0,8 ^a	3,2 ^b	0,29	< 0,0001
Mjölksyra	0,1 ^a	0,6 ^a	52,3 ^b	2,43	< 0,0001
Ättiksyra	0,1 ^a	0,7 ^b	5,7 ^c	0,19	< 0,0001
2,3-butandiol	<0,1 ^a	0,4 ^a	5,4 ^b	0,28	< 0,0001
Etanol	<0,1 ^a	5,7 ^b	10,3 ^c	1,57	0,003

^{a,b,c} Olika bokstäver inom samma rad anger signifikant skillnad vid det angivna P-värdet.

* Beräknad totalhalt av lättlösliga kolhydrater.

Tarmvätska

Resultaten för analys av tarmvätskan redovisas i tabellerna 4, 5 och 6. Med avseende på glukos, fruktos, sukros och fruktan fanns inga skillnader varken mellan foder, provtagningstidpunkter eller hästar. Generellt sett var WSC-innehållet i tarmvätskan mycket lågt.

Tabell 4. Lättlösliga kolhydrater i tarmvätskan (mg/ml) vid utfodring av ensilage, hösilage och hö

	Ensilage	Hösilage	Hö	SEM	P
Glukos	0,01	-0,01	0,04	0,021	0,33
Fruktos	0,03	0,09	0,08	0,028	0,26
Sukros	-0,05	-0,16	0,02	0,132	0,61
Fruktan	0,08	-0,03	0,01	0,098	0,76

Det fanns inga interaktioner mellan foder och provtagningstillfälle, inte heller mellan hästar och provtagningstillfälle. Detta innebar att alla foder uppträdde lika i kolon vid de olika tidpunkterna (figur 5-8). Mellan hästar och foder fanns interaktioner. Häst A4 hade ett högre fruktaninnehåll i tarmvätskan vid ensilageutfodring jämfört med de andra

hästarna. Hästen A4 hade då ett medelvärde på 0,70 mg/ml, medan de andra hästarna vid ensilageutfodring hade värden mellan -0,26 mg/ml till 0,03 mg/ml.

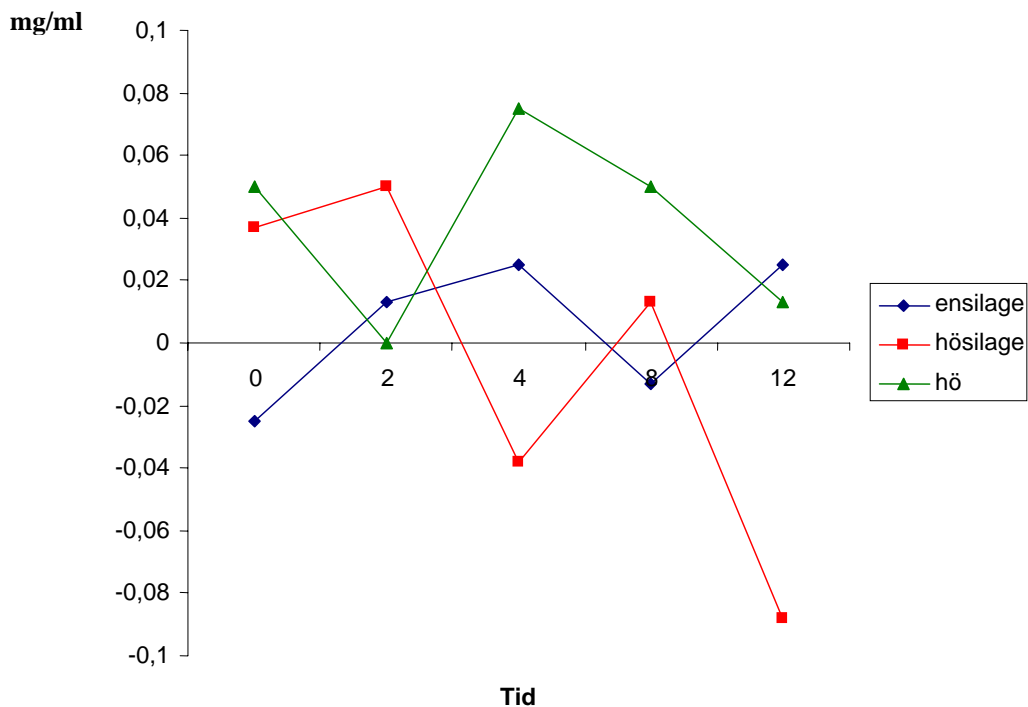
Tabell 5. Lättlösliga kolhydrater i tarmvätskan (mg/ml) vid de olika provtagningsstidpunkterna

	0h	2h	4h	8h	12h	SEM	P
Glukos	0,02	0,02	0,02	0,02	-0,02	0,027	0,83
Fruktos	0,12	0,10	0,01	0,05	0,06	0,036	0,24
Sukros	0,05	-0,08	-0,21	< 0,01	-0,08	0,170	0,86
Fruktan	-0,02	0,01	-0,02	0,08	0,04	0,127	0,97

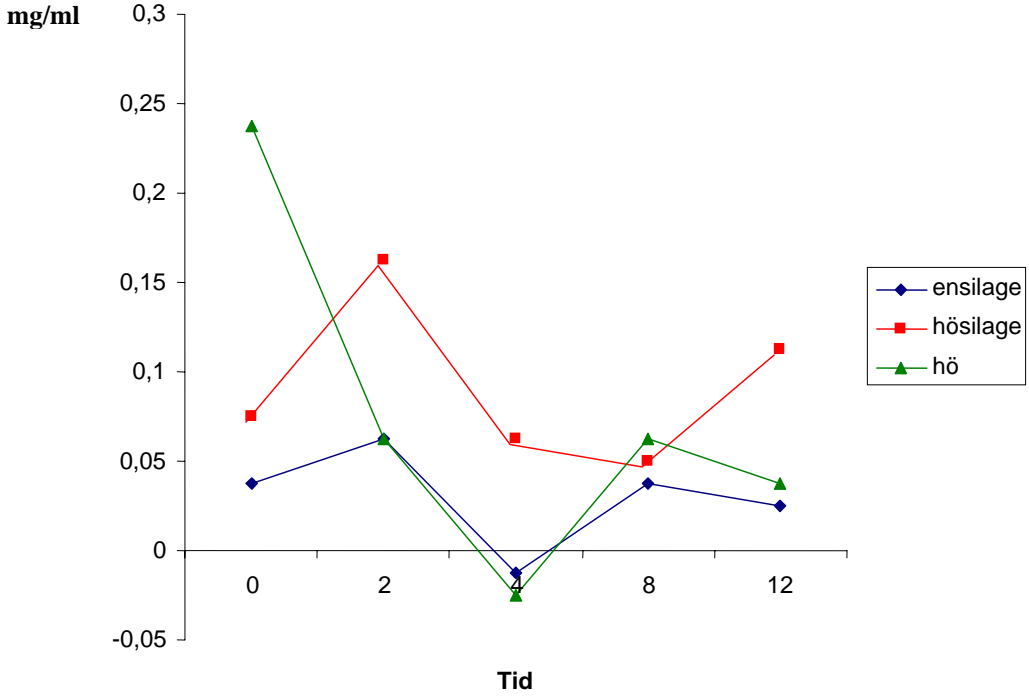
Tabell 6. Lättlösliga kolhydrater i tarmvätskan (mg/ml) hos individuella hästar

	A1	A2	A3	A4	SEM	P
Glukos	0,03	< 0,01	0,02	< 0,01	0,024	0,72
Fruktos	0,04	0,07	0,10	0,05	0,032	0,66
Sukros	0,04	0,01	-0,22	-0,09	0,152	0,63
Fruktan	-0,06	-0,05	< 0,01	0,17	0,114	0,45

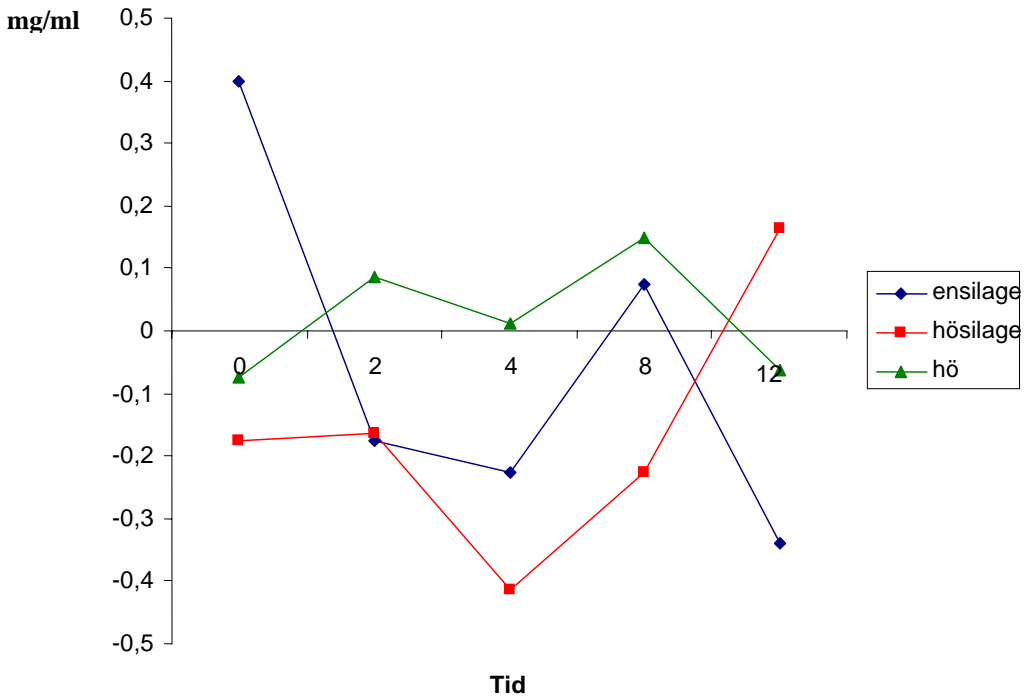
Anledningen till att negativa värden förekommer i tabell 4-6 beror på de olika stegen i beräkningsmallen enligt Larsson & Bengtsson (1983). Om exempelvis absorbanzen E1 är högre än absorbanzen E2 för provet, kommer detta innebära att ett negativt värde uppkommer.



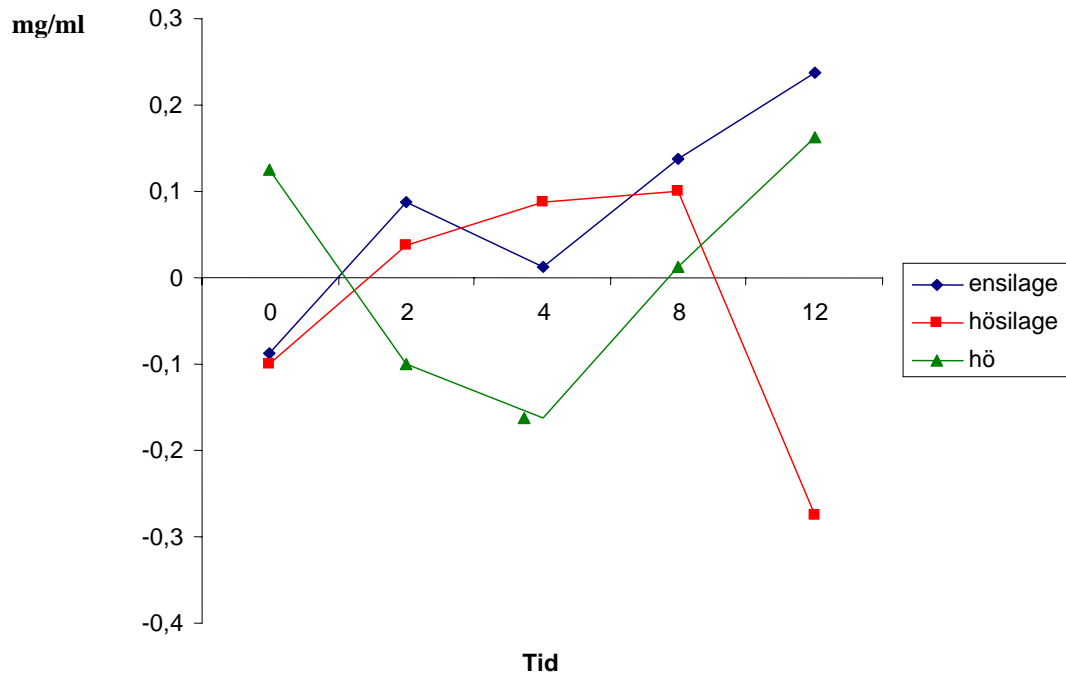
Figur 5. Glukosinnehåll i tarmvätskan (mg/ml) vid de olika provtagningsstidpunkterna.



Figur 6. Fruktosinnehåll i tarmvätskan (mg/ml) vid de olika provtagningsstidpunkterna.



Figur 7. Sukrosinnehåll i tarmvätskan (mg/ml) vid de olika provtagningsstidpunkterna.



Figur 8. Fruktaninnehåll i tarmvätskan (mg/ml) vid de olika provtagningstidpunkterna.

DISKUSSION

Förtorkad grönmassa

För total WSC, glukos, fruktos och sukros fanns inga skillnader i den förtorkade grönmassan för hö, hösilage och ensilage, trots att förtorkningstiden varierade för de olika vallfodren. Sukros bryts ner vid torkning, men denna nedbrytning stannar av efter två timmar (Wylam, 1953). Då all grönmassa förtorkades längre tid än två timmar syntes ingen skillnad i sukroshalt mellan behandlingarna. Höets grönmassa innehöll däremot ungefär hälften av fruktanhalten i grönmassa för hösilage och ensilage (tabell 2). Hydrolys av fruktan sker under längre torkningsperioder av gräs, vilket kan förklara skillnaden då höet torkades längre än ensilaget och hösilaget (Wylam, 1953).

Foder

Lättlösliga kolhydrater

Totalhalten av WSC i grönmassa och i konserverat foder skiljde sig inte åt för höet eller hösilaget. I ensilaget var totalhalten WSC lägre i det färdiga fodret än i grönmassan. Detta kan till viss del förklaras av att WSC i ensilaget brutits ner och konverterats till organiska syror (tabell 3) (Wylam, 1953).

Hösilaget hade den högsta glukoshalten, medan hö och ensilage hade lika glukoskoncentration (tabell 3). Det hade varit mer troligt att höet haft högst och ensilaget haft lägst glukosinnehåll, då fermentationen i ensilaget konsumerar glukos. I hösilage begränsas fermentationen på grund av den högre ts-halten, vilket innebär att generellt sett så innehåller hösilage mer glukos än ensilage, men mindre än hö (McDonald *et al.*, 2002). Anledningen till att höet hade ett lägre glukosinnehåll än hösilaget kan bero på mekaniska förluster av blad vid skörd. Grödan vändes nämligen fyra gånger innan den pressades till hö, medan den för hösilage vändes tre gånger och för ensilage endast två gånger. Under förtorkningen förlorar bladen mer vätska än stjälken vilket innebär att bladen blir sprödare och lättare förloras vid mekanisk bearbetning (McDonald *et al.*, 2002).

För fruktos fanns ingen skillnad mellan fodertyperna, men det fanns en tendens till skillnader motsvarande de för glukos. Fruktosinnehållet var högre i det konserverade fodret än i förtorkad grönmassa för hö och hösilage, medan det för ensilaget låg på ungefär samma nivå. Vid ensilering bryts fruktaner ner till fruktos (Wylam, 1953; Larsson & Bengtsson, 1983; Lundén Pettersson & Lindgren, 1989; Merry *et al.*, 1995), men fruktosen används också som näringskälla av mjölksyrabakterierna vid bildandet av mjölksyra (Müller & Steller, 1995; McDonald *et al.*, 2002).

Sukrosinnehållet var generellt sett lägre i konserverat foder än i respektive förtorkad grönmassa (tabell 2 och 3). Sukroshalterna var lägre för hösilage och ensilage än för hö, vilket troligen berodde på enzymatisk och bakteriell nedbrytning av sukros vid ensilering (Lundén Pettersson & Lindgren, 1989). Sukros bryts ner till en fruktos- och en glukosmolekyl, men eftersom glukos och fruktos förbrukas vid ensilering, så kunde nedbrytningen av sukros inte ses i någon ökning i glukos- och fruktosinnehåll i ensilaget (tabell 3).

Merry *et al.* (1995) påvisade att pH 6 räckte för att hydrolysera fruktaner i ensilage. Således borde även fruktan i höet (pH 6,02) och i hösilaget (pH 5,60) kunna brytas ner, vilket kan förklara varför fruktaninnehållet var lägre i alla tre vallfodren än i dess grönmassa (tabell 2 och 3). Att ensilaget hade lägst innehåll, hösilaget intermediärt, och höet högst innehåll av fruktaner var väntat, eftersom fruktan bryts ned vid ensilering (Wylam, 1953; Larsson & Bengtsson, 1983; Lundén Pettersson & Lindgren, 1989; Merry *et al.*, 1995).

Övriga variabler

pH-värdet var lägst i ensilage, högst i hö, och intermediärt i hösilage (tabell 3). I ensilage fermenteras WSC till organiska syror, främst mjölksyra, vilket leder till pH-sänkning (Butler & Bailey, 1973). I denna studie skiljde sig dock inte mjölksyrainnehållet åt mellan hö och hösilage, då tillväxt av mjölksyrabakterier generellt förhindras i högre ts-halter (McDonald *et al.*, 2002). Följaktligen kan inte skillnaden i pH förklaras av innehållet av mjölksyra. Däremot var innehållet av ättiksyra högre i hösilaget än i höet, vilket i viss mån kan förklara pH-skillnaden. Ovälkomna bakterier i ensilage och hösilage, såsom klostridier och enterobakterier, kan även de producera ättiksyra och etanol. Dock tillväxer dessa vid ett pH- optimum på omkring 7 (McDonald *et al.*, 2002). pH i denna studie låg på 5,60 för hösilaget, respektive 4,44 för ensilaget, vilket troligtvis betyder att ättiksyra och etanol inte producerades av klostridier och/eller enterobakterier. Dessutom tillväxer klostridier sällan i hösilage som har en ts-halt över 50 % (McDonald *et al.*, 2002). Etanol i ensilage och hösilage kan bildas av heterofermentativa mjölksyrabakterier, men också av jästsvampar (McDonald *et al.*, 2002).

Tarmvätska

I den här studien var sammansättningen av WSC-fraktionen i högra ventralkolon hos hästar som ätit hö, hösilage eller ensilage lika. I stort sett all glukos, fruktos, sukros och fruktan som fanns i de olika vallfodren var omsatta före digestan nått högra ventralkolon. Glukos, fruktos och sukros bryts ner och tas upp redan i magsäcken och tunntarmen (Roberts, 1975; Dyer *et al.*, 2002), varpå dessa resultat var väntade. Hur fruktaninnehållet skulle se ut i tarmvätskan var inte lika självklart, då tidigare studier på råttor (Nilsson *et al.*, 1988), fistulerade grisar (Böhmer *et al.*, 2005) och häst (Möbelers *et al.*, 2005; Respondek *et al.*, 2005) redovisat motstridiga resultat. Orsaken till de olika slutsatser som dragits kan vara att olika djurslag har olika förmåga att digererera och/eller fermentera fruktan. I försöken har även metoderna skiljt sig åt, och mängd och typ av fruktan har varierat, vilket kan ha betydelse för resultatet.

Fruktannedbrytning

I vissa försök har fruktan i form av inulin, eller OF framställd från inulin, använts (Nilsson *et al.*, 1988; Böhmer *et al.*, 2005; Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006). Inulin är uppbyggt av fruktosenheter sammanlänkade genom β -2,1-bindningar (Suzuki & Chatterton, 1993), medan fruktaner i C3 gräs främst är sammanlänkade i β -2,6-bindningar. Polymerer innehållande β -bindningar inte kan brytas ned av kroppens egna enzymer, utan måste brytas ner mikrobiellt (McDonald *et al.*, 2002). Fruktaner med β -2,6-bindningar kan även brytas ner genom sur hydrolys (Larsson & Bengtsson, 1983). β -2,6-bunden fruktan börjar därför troligen brytas ner redan i magsäckens körteldel hos hästen, där födan når ett pH-värde på ungefär 2,5 då födan är gräsbaserad (McDonald *et al.*, 2002). Förekomst av mikroorganismer före grovtarmen kan också vara involverade i

fruktannedbrytning. Utfodring *in vivo* med kortkedjiga FOS (0,09 g/kg kroppsvikt /dag) resulterade i att totalantalet bakterier, streptokocker och laktatnedbrytande bakterier i hästens magsäck ökade och att ingen FOS kunde påvisas i magsäck eller tunntarm två timmar efter utfodring (Respondek *et al.*, 2005). Detta betydde att nedbrytning skett redan där. de Fombelle *et al.* (2003) påvisade att det finns bakterier i hästens mag-tarmkanal långt före caecum. Redan i magsäcken fanns det största antalet totala anaeroba bakterier jämfört med jejunum, ileum och grovtarmskomplexet (de Fombelle *et al.*, 2003), och tillsammans med tunntarmen innehöll magsäcken stora antal laktobaciller, streptokocker och laktatutnyttjande bakterier.

Fruktaner - fång?

Att stora intag av fruktaner skulle kunna orsaka fång hos häst (Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006) och nöt (Thoefner *et al.*, 2004) har påvisats, dock ej i relation till bete. Thoefner *et al.* (2004), Milinovich *et al.* (2006) och Van Eps & Pollitt (2006) använde doser om 7,5-12,5 g OF/kg kroppsvikt för att inducera fång. Det bör poängteras att den OF som användes i försöken hade β -2,1-bindningar, till skillnad från gräs som (under svenska förhållanden) främst har β -2,6-bunden fruktan. Om man räknar på hur mycket fruktan en häst får i sig på bete, är halterna normalt sett betydligt lägre än de doser som har använts för att inducera fång. Ett räkneexempel av Jansson (2006), visade att om hästen betar 3 kg ts per 100 kg kroppsvikt på en dag (vilket är ett högt intag) av ett gräs innehållande 15 % fruktan, så får den i sig 450 g fruktan/100 kg kroppsvikt. Detta motsvarar 4,5 g fruktan/kg kroppsvikt, vilket är lite mer än hälften av de halter som använts för att inducera fång (van Eps & Pollitt, 2006; Milinovich *et al.*, 2006). För att hästen ska konsumera motsvarande mängd fruktan som använts i de fånginducerade försöken (7,5 g fruktan/kg kroppsvikt), måste betet eller fodret innehålla ungefär 30 % fruktan (300 g/kg ts), om man räknar med en konsumtion av 3 kg ts/100 kg kroppsvikt. I denna studie återfanns det högsta fruktaninnehållet i förtorkad grönmassa för ensilage (34,1 g/kg ts) och det lägsta innehållet (3,3 g/kg ts) i ensilage. Om man räknar på hur mycket medelhästen i försöket (475 kg), behöver konsumera för att inta 7,5 g fruktan/kg kroppsvikt, blir det ungefär 104 kg ts av grönmassan, respektive 1080 kg ts av ensilaget. Dessa resultat är således helt absurda. Vallfoder innehållande fruktanhalter av samma storleksordning som i denna studie kan orimligt inducera fång enligt den modell Van Eps & Pollitt (2006) använt. Skilda växtarter innehåller dock olika halt av WSC, och WSC-fraktionen kan se olika ut hos olika växtarter och -sorter (McDonald *et al.*, 2002). Skillnader i fruktanernas molekylvikt och polymeriseringsgrad har också påvisats: fruktan från timotej har en högre molekylvikt och högre polymeriseringsgrad än fruktan från hundäxing, vilket skulle kunna påverka nedbrytningen i hästens mag-tarmkanal (Kühbauch & Kleeberger, 1975). Fruktaner med en hög molekylvikt och polymeriseringsgrad har påvisats fermenteras långsammare än fruktaner med en lägre molekylvikt och polymeriseringsgrad i *in vitro*-försök (Ince *et al.*, 2005). I denna studie innehöll vallfodret 55 % timotej och fruktaninnehållet bör därför fermenteras långsammare än om andra grässorter som t.ex. hundäxing och Engelskt rajgräs utgjort det största innehållet. Trots detta återfanns ingen fruktan när digestan nådde högra ventralkolon. Andra faktorer som påverkar fruktaninnehållet i växande gräs är

utvecklingsstadium hos gräset, kvävenivå i marken (Butler & Bailey, 1973), temperatur (Butler & Bailey, 1973; Chatterton *et al.*, 2006) och sukroskoncentration (Cairns *et al.*, 1999). Därför skulle, i undantagsfall, eventuellt de nivåer av fruktanintag som Van Eps & Pollitt (2006) använt för att inducera fång kunna uppnås om andra växter än de vanliga vallgräsen är involverade, eller vid extrema växtförhållanden. I detta försök var vallfodren skördade första veckan i juni 2005. Det innebär att halten av fruktan i gräset inte var lika hög som den kan vara i mer utvecklade plantor senare på säsongen (Butler & Bailey, 1973; Chatterton *et al.*, 2006), då andelen stjälk ökat (McDonald *et al.*, 2002). Att släppa hästar på spätt vårbete anses vara en riskfaktor till uppkomsten av fång (Longland & Byrd, 2006), men vid denna tidpunkt är fruktanhalten ofta låg i gräset.

In vivo - In vitro

Det bör påpekas att flera av de redovisade studierna som har anknytning till överutfodring av fruktan eller stärkelse, skett *in vitro* (Mungall *et al.*, 2001; Bailey *et al.*, 2003), medan vissa försök skett *in vivo* (Garner *et al.*, 1977; Rowe *et al.*, 1994; Milinovich *et al.*, 2006; Van Eps & Pollitt, 2006). Hur försöken än går till, kan ett *in vitro*-försök aldrig jämföras med ett *in vivo*-försök. Vad som egentligen sker i hästens mag-tarmkanal visas bäst *in vivo*, då den miljö som återfinns i hästen aldrig exakt kan återskapas på laborativ väg. Även *in vivo*-försök kan dock vara problematiska då det kan vara svårt att utföra större kontrollerade studier. Detta skulle kunna innebära att den lilla grupp av försökshästar som används i ett försök inte är representativ för hela hästpopulationen, då vissa raser är mer disponibla för fång (Alford *et al.*, 2001; Harris, 2005). Även hästens hull (Frape, 2003), kön och ålder (Alford *et al.*, 2001) spelar in. Vissa *in vitro*-försök måste också försvaras då det rent av, enligt mig, kan vara oetiskt att utsätta försöksdjur för vissa studier. Det kan även vara användbart att *in vitro* kontrollera och utveckla metoder som sedan kan användas *in vivo* på ett givande sätt.

Inducerad- vs. naturlig fång

Ytterligare faktorer som bör tas i beaktande i de redovisade studierna är att inducerad fång kanske inte kan likställas med naturligt förekommande fång. Försöken utförda av Garner *et al.* (1977) och Van Eps & Pollitt (2006), som inducerade fång, kan ha så stor effekt på grovtarmsfunktionen att de nödvändigtvis inte speglar förloppet vid naturligt förekommande fång, men att de slutliga symptomen i hoven blir desamma (Bailey *et al.*, 2004). De foder som inducerat fång har haft β -2,1-bindningar, vilka inte är speciellt vanligt förekommande i C3-gräs (Suzuki & Chatterton, 1993), och doserna varit mycket höga. I dagsläget finns ingen redovisad koppling mellan fång orsakad av ett överintag av OF och betesrelaterad fång. Jag anser att fokus kring forskning gällande fång, bör läggas vid vad som händer i hästen *in vivo* relaterat till bete, men även kring insulinresistens och dess koppling till höga kraftfodergivor.

Analysmetoder

I alla försök kan en viss andel felaktiga analysvärden uppkomma på grund av ett antal felkällor. I detta försök skulle de bland annat kunna utgöras av provtagning av grönmassa och grovfoder, om denna inte varit representativ. De olika preparerings- och analysstegen kan därefter ha påverkat, då vägning, mätning, tillsatta mängder och temperatur kan inverka på analyserna. Det ska ändå påpekas att alla analyser skett enligt de metodbeskrivningar som finns tillgängliga. För analysen av WSC ingick även spektrofotometrisk mätning. Där kan eventuella luftbubblor eller små partiklar störa strålgången och påverka absorbansen. Det kan förklara varför negativa halter av WSC uppkom i beräkningsstegen. Egentligen kan aldrig ett innehåll vara lägre än noll. Trots eventuella analysfel, skulle dessa inte kunnat påverka det slutliga resultatet i detta försök. Innehållet av WSC i tarmvätskan var så lågt, att några enheter högre värde inte skulle ha kunnat ge ett annorlunda resultat.

SLUTSATSER

- Det fanns inga skillnader i innehåll av glukos, fruktos och sukros mellan förtorkad grönmassa för hö, hösilage och ensilage. Förtorkad grönmassa för hö innehöll ungefär hälften så mycket fruktan som förtorkad grönmassa för hösilage och ensilage.
- Höet hade högre innehåll av sukros och fruktan jämfört med hösilage och ensilage. Ensilage innehöll lägre fruktankoncentration än hösilage och hade ensilerats i större utsträckning. Hösilage hade högst glukosinnehåll.
- Glukos-, fruktos-, sukros- och fruktaninnehållet i tarmvätska från hästar som utfodrats med hö, hösilage och ensilage skiljde sig inte åt, och överlag var halterna väldigt låga.
- Glukos-, fruktos-, sukros- och fruktaninnehållet i tarmvätska från hästar som utfodrats med hö, hösilage och ensilage var lika före (0 h) samt 2, 4, 8 och 12 h efter utfodring.

ACKNOWLEDGEMENTS

Jag vill tacka alla er som hjälpt mig vid genomförandet av detta examensarbete inom agronomutbildningen.

Stort tack till Håkan Wallin på Kungsängens Servicelaboratorium för din hjälp, kunnande och positiva inställning. Aldrig förut har det varit så roligt att "labba".

Till min familj och mina vänner vill jag ge en stor kram för era uppiggande ord. Även när det kändes lite tungt peppade ni mig till att kämpa på!

Slutligen vill jag ge min handledare, Cecilia Müller, en STOR eloge för all hjälp och tålamod under detta arbete, som har fått mig att kritiskt granska, skilja på teori och praktik, samt att tänka ett steg längre. Du besitter ett stort kunnande som du inte är rädd att dela med dig av, vilket gör att jag lärt mig otroligt mycket under dessa veckor!

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate how the content of glucose, fructose, sucrose and fructan (WSC) varied in silage, haylage and hay harvested from the same field and at the same time of harvest. The study also investigated if differences in the WSC-fraction in the forages caused differences in composition of WSC in the colon of horses fed the forages. Hay, haylage and silage were harvested in the first week of June 2005 and stored for about nine months before feeding. Horses that were fistulated in right ventral colon and caecum were used, but only the colon fistula was used for sampling.

The fresh crop and the conserved hay, haylage and silage were analyzed for chemical composition and WSC-fraction. The content of fructan was lower in the fresh crop of hay than in the fresh crop of silage and haylage. In the conserved feed, hay had the highest content of DM, sucrose and fructan. Haylage had the highest content of glucose, whereas DM, fructan, acetic acid, ethanol and pH-value were intermediates between hay and silage. Silage had the highest content of succinic acid, lactic acid, acetic acid and 2,3-butanediol, and the lowest DM, fructan and pH-value compared to hay and haylage.

Horses were fed each forage for 21 days in a changeover-experiment, and were sampled via the colon fistula at 0, 2, 4, 8, and 12 h after feeding. The content of glucose, fructose, sucrose and fructan in colon samples were analyzed. The WSC-fraction did not differ in the colon content when horses were fed hay, haylage or silage. Also, there was no difference in WSC-fraction between sampling times, and no difference among individual horses. Generally, the amount of WSC was very low in the colon fluid. There were no interactions between forage type and time of sampling.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Andersson, R. & Hedlund, B. 1983. HPLC Analysis of organic acids in lactic acid fermented vegetables. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 176, 440-443.
- Alford, P., Geller, S., Richardson, B., Slater, M., Honnas, C., Foreman, J., Robinson, J., Messer, M., Roberts, M., Goble, D., Hood, D. & Chaffin, M. 2001. A multicenter, matched case-control study of risk factors for equine laminitis. *Preventive Veterinary Medicine* 49, 209-222.
- Bailey, S.R., Baillon, M.-L., Rycroft, A.N., Harris, P.A. & Elliott, J. 2003. Identification of equine cecal bacteria producing amines in an in vitro model of carbohydrate overload. *Applied and Environmental Microbiology* 69, (4), 2087-2093.
- Bailey, S.R., Marr, C.M. & Elliott, J. 2004. Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. *The Veterinary Journal* 167, 129-142.
- Bailey, S.R., Rycroft, A. & Elliott, J. 2002. Production of amines in equine cecal contents in an in vitro model of carbohydrate overload. *Journal of Animal Science* 80, 2656-2662.
- Björnhag, G. 2000. *Växtätarna. Kompendium i fodersmältningsorganens funktion hos de växtätande husdjuren*. 8:e upplagan, Institutionen för djurfysiologi, Sveriges lantbruksuniversitet, Uppsala. pp, 3, 21-26.
- Butler, G.W. & Bailey, R.W. 1973. *Chemistry and Biochemistry of Herbage*. Academic Press. London. Vol 1. pp, 137-138, 150.
- Böhmer, B.M., Branner, G.R. & Roth-Maier, D.A. 2005. Precaecal and faecal digestibility of inulin (DP 10-12) or an inulin/*Enterococcus faecium* mix and effects on nutrient digestibility and microbial gut flora. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 89, 388-396.
- Cairns, A.J., Nash, R., Machado de Carvalho, M-A. & Sims, I.M. 1999. Characterization of the enzymatic polymerization of 2,6-linked fructan by leaf extracts from timothy grass (*Phleum pratense*). *New Phytology* 142, 79-91.
- Chai, W., Udén, P. 1998. An alternative oven method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fibre. *Animal Feed Science and Technology* 74, 281-288.
- Chatterton, N.J., Watts, K.A., Jensen, K.B., Harrison, P.A. & Horton, W.H. 2006. Nonstructural carbohydrates in oat forage. *Journal of Nutrition* 136, 2111-2113

Dyer, J., Fernandez-Castaño Merediz, E., Salmon, K.S.H., Proudman, C.J., Edwards, G.B. & Shirazi-Beechey, S.P. 2002. Molecular characterisation of carbohydrate digestion and absorption in equine small intestine. *Equine Veterinary Journal* 34, 349-358.

Elliott, J. & Bailey, A.R. 2006. Gastrointestinal derived factors are potential triggers for the development of acute equine laminitis. *Journal of Nutrition* 136, 2103-2107.

de Fombelle, A., Varloud, M., Goachet, A-G., Jacotot, E., Philippeau, C., Drogoul, C. & Julliand, V. 2003. Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets. *Animal Science* 77, 293-304.

Frape, D. 2004. *Equine nutrition & feeding*. 3rd edition. Blackwell Publishing Ltd. Oxford. UK. pp, 3, 11, 438-439.

Garner, H.E., Hutcheson, D.P., Coffman, J.R., Hahn, A.W. & Salem, C. 1977. Lactic acidosis: a factor associated with equine laminitis. *Journal of Animal Science* 45, 5.

Gräßler, J & von Borstel, U. 2005. Fructan content in pasture grasses. *Equine Nutrition Conference Hannover 2005. Pferdeheilkunde* 21, 75-76.

Harris, P.A. 2005. Influence of feeds and feeding on incidence of laminitis. *Equine Nutrition Conference Hannover 2005. Pferdeheilkunde* 21, 64-65.

Harris, P.A., Bailey, S.R., Elliott, J. & Longland, A. 2006. Countermeasures for Pasture-Associated Laminitis in Ponies and Horses. *Journal of Nutrition* 136, 2114-2121.

Hoffman, R.M., Boston, R.C., Stefanovski, D., Kronfeld, D.S. & Harris, P.A. 2003. Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred geldings. *Journal of Animal Science* 81, 2333-2342.

Holme, D.J. & Peck, H. 1998. *Analytical Biochemistry*, 3rd edition. Pearson Education Limited. Harlow. Essex, UK. pp, 334-335.

Ince, J.C., Longland, A.C., Moore-Colyer, M.J.S. & Harris, P.A. 2005. In vitro fermentation of three species of fresh grass differing in water-soluble carbohydrate content with an equine faecal inoculum. *Equine Nutrition Conference Hannover 2005. Pferdeheilkunde* 21, 66-67.

Jansson, A. 2006. Fruktan – viktig kolhydrat med risker? *Foderbladet, Häst*. SLU, Uppsala, nr 3, pp, 4.

Kronfeld, D. 2005. Insulin signaling, laminitis, and exercise. *Journal of Equine Veterinary Science* 25, (9), 404-407.

- Kühbauch, W. & Kleeberger, A. 1975. Bacterial decomposition of grass-fructosan of different degrees of polymerization. *Journal of British Grassland Society* 30, 223.
- Larsson, K. & Bengtsson, S. 1983. Bestämning av lätt tillgängliga kolhydrater i växtmaterial. *Statens Lantbrukskemiska Laboratorium*. SLU, Uppsala, nr 22, pp, 1-10.
- Longland, A.C. & Byrd, B.M. 2006. Pasture nonstructural carbohydrates and equine laminitis. *Journal of Nutrition* 136, 2099-2102.
- Lundén Pettersson, K. & Lindgren, S. 1989. The influence of the carbohydrate fraction and additives on silage quality. *Grass and Forage Science* 45, 223-233.
- Mackenzie, D. J. & Wylam, C. B. 1957. Analytical studies on the carbohydrates of grasses and clovers. VIII - Changes in carbohydrate composition during growth of perennial rye-grass. *Journal of Science Food and Agricultural* 8, 38-45.
- McDonald, P., Henderson, A.R. & Heron S.J.E. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd edition. Chalcombe Publications Bucks, UK.
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D & Morgan, C.A. 2002. *Animal Nutrition*. 6th edition. Pearson Education Limited. Harlow. Essex, UK. pp, 14-18, 22-28, 163-176, 496-497, 515-519, 523-524, 537.
- Medina, B., Girard, I.D., Jacotot, E. & Julliand, V. 2002. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed fiber or a high starch diet. *Journal of Animal Science* 80, 2600-2609.
- Merry, R.J., Winters, A.L., Thomas, P.I., Müller, M. & Müller, T. 1995. Degradation of fructans by epiphytic and inoculated lactic acid bacteria and by plant enzymes during ensilage of normal and sterile hybrid ryegrass. *Journal of Applied Bacteriology* 79, 583-591.
- Milinovich, G.J., Trott, D.J., Burrell, P.C., van Eps, A.W., Thoefner, M.B., Blackall, L.L., Al Jassim, R.A.M., Morton, J.M. & Pollitt, C.C. 2006. Changes in equine hindgut bacterial populations during oligofructose-induced laminitis. *Environmental Microbiology* 8, 885-898.
- Mungall, B.A., Kyaw-Tanner, M. & Pollitt, C.C. 2001. *In vitro* evidence for bacterial pathogenesis of equine laminitis. *Veterinary Microbiology* 79, 209-223.
- Müller, M. & Lier, D. 1994. Fermentation of fructans by epiphytic lactic acid bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* 76, 406-411.

- Müller, M. & Steller, J. 1995. Comparative studies of the degradation of grass fructan and inulin by strains of *Lactobacillus papacasei* subsp. *paracasei* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Bacteriology* 78, 229-236.
- Müller, C.E. & Udén, P. 2007. Effect of forage conservation method on microbial and chemical composition in the hindgut of horses fed hay, haylage and silage. Paper V in: Diss. 44/2007. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*. SLU, Uppsala.
- Möbeler, A., Vervuert, I. & Coenen, M. 2005. Hydrogen and methane exhalation after ingestion of different carbohydrates (starch, inulin, pectin and cellulose) in healthy horses. *Equine Nutrition Conference Hannover 2005, Pferdeheilkunde* 21, 73-74.
- Nilsson, U., Öste, R., Jägerstad, M. & Birkhed, D. 1988. Cereal fructans: *in vitro* and *in vivo* studies on availability in rats and humans. *Journal of Nutrition* 118, 1325-1330.
- Orafti. 2007-03-07.
<http://www.orafti.com/orafti/orafti.nsf/AFI/625B5B1197D0BC6DC125704C002B10C0?opendocument>
- Respondek, F., Goachet, A-G., Rudeauz, F. & Julliard, V. 2005. Effects of short-chain fructo-oligosaccharides on the microbial and biochemical profile of different segments of the gastro-intestinal tract in horses. *Equine Nutrition Conference Hannover 2005, Pferdeheilkunde* 21, 69-70.
- Roberts, M.C. 1975. Carbohydrate digestion and absorption studies in the horse. *Research in Veterinary Science* 18, 64-69.
- Robinson, N.E. 2003. *Current therapy in equine medicine* 5. Saunders. St. Louis. Missouri, USA. pp, 520-521, 702.
- Rowe, J.B., Lees, M.J. & Pethick, D.W. 1994. Prevention of acidosis and laminitis associated with grain feeding in horses. *Journal of Nutrition* 124, 2742-2744.
- Shewmaker, G.E., Mayland, H.F., Roberts, C.A., Harrison, P.A., Chatterton, N.J & Sleper, D.A. 2006. Daily carbohydrate accumulation in eight tall fescue cultivars. *Grass and Forage Science* 61, 413-421.
- Suzuki, M & Chatterton, N.J. 1993. *Science and Technology of Fructans*. CRC Press. Florida. USA. pp, 2-3, 142, 192, 231.
- Thoefner, M.B., Pollitt, C.C., van Eps, A.W., Milinovich, G.J., Trott, D.J., Wattle, O. & Andersen, P.H. 2004. Acute bovine laminitis: A new induction model using alimentary oligofructose overload. *Journal of Dairy Science* 87, 2932-2940.
- Van Eps, A.W. & Pollitt, C.C. 2006. Equine laminitis induced with oligofructose. *Equine Veterinary Journal* 38, 203-208.

Varloud, M., de Fombelle, A., Goachet, A.G., Drogoul, C. & Julliand, V. 2004. Partial and total apparent digestibility of dietary carbohydrates in horses as affected by the diet. *Animal Science* 79, 61-72.

Watts, K.A. 2005. A review of unlikely sources of excess carbohydrate in equine diets. *Journal of Equine Veterinary Science* 25, (8), 338-344.

Wylam, C. B. 1953. Analytical studies on the carbohydrates of grasses and clovers. III. – Carbohydrate breakdown during wilting and ensilage. *Journal of Science Food and Agricultural* 4, 527-531.

Nr	Titel och författare	År
235	Can activity meters be used as heat detectors for water buffaloes in hot climates? Sofia Olsson	2007
236	Dokumentation av ensilerin g med focus på clostridiesporer i mjölk Documentation of ensiling practices with focus on the risk of infecting milk with clostridium spores Hanna Johansson	2007
237	Foderhäckar till hästar I lösdrift Feed racks for horses in loos-housing system Jenny Johansson	2007
238	Fallstudie av 10 skånska gårdar för en lönsam stutproduktion Case study of ten steer producers in Skåne for a profitable production Nina Bäcklund	2007
239	Fri utfodring av halm som strategi för att förhindra stereotypier hos uppbundna kvigor Straw <i>ad lib</i> as a feeding strategy for preventing the development of stereotypies in confined heifers Johanna Spets	2007
240	Orsaker till mekaniska skador på nötslaktroppar som uppstått under transporten till slakteriet eller på slakteriets stall Survey of the causes to injuries on cattle carcasses during transport or in the abattoir lairage Marie Olofsson	2007
241	Nötkreaturens val av betesvegetation på naturliga betesmarker Nutrient content and type of vegetation selected by cattle grazing semi-natural pastures Maja Pelve	2007
242	Tillskottsutfodring av smågrisar under digivningsperioden Creep feeding of piglets during the suckling period Emma Ivarsson	2007
243	Natural Variations of Milk Somatic Cell Count in Dairy Cows Marta Woloszyn	2007
244	Riklig betestillgång jämfört med begränsat bete – inverkan på beteendet hos kor i automatiska mjölkningssystem Cows in automatic milking systems offered different pasture allowances – effects on cow behaviour Marina Falk	2007

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 10 eller 20 poäng i agronomexamen) samt större enskilda arbeten (10-20 poäng) vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet. En förteckning över senast utgivna arbeten i denna serie återfinns sist i häftet. Dessa samt tidigare arbeten kan i mån av tillgång erhållas från institutionen.

DISTRIBUTION:
Sveriges Lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Box 7024
750 07 UPPSALA
Tel. 018-67 28 17
