



Tarmmikrobiotan hos häst på vallfoderbaserade foderstater

The equine intestinal microbiota on forage based diets

Amanda Jonsson

Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU
Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Agronomprogrammet - Husdjur
Uppsala 2021



Tarmmikrobiotan hos häst på vallfoderbaserade foderstater

The equine intestinal microbiota on forage based diets

Amanda Jonsson

Handledare:	Katrin Lindroth, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Examinator:	Cecilia Müller, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Omfattning:	15 hp
Nivå och fördjupning:	Grundnivå, G2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i husdjursvetenskap, G2E
Kurskod:	EX0865
Program/utbildning:	Agronomprogrammet - husdjur
Kursansvarig inst.:	Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Utgivningsort:	Uppsala
Utgivningsår:	2021
Omslagsbild:	Amanda Jonsson
Nyckelord:	bakterier, ensilage, foder, grovtarm, hö, hösilage, kolon, träck

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.

Sammanfattning

Hästen är en grovtarmsjäsnare anpassad för fiberrika foderstater. Ett stort antal mikrober deltar i nedbrytning av foder och främst i hästens grovtarm. I dagsläget finns det stora kunskapsluckor om tarmmikrobiotans funktion hos häst, vilket har resulterat i ett ökat forskningsintresse. Flertalet studier har påvisat att olika fodertyper påverkar den relativa förekomsten av mikrober och syftet med den här litteraturstudien var att sammanställa resultat från studier vilka fokuserat på tarmmikrobiotan hos hästar på vallfoderbaserade foderstater. Resultatet från det här arbetet visar endast ett fåtal studier som fokuserat på tarmmikrobiotan hos hästar som enbart utfodrats med vallfoder. Det är utifrån den här litteraturstudien svårt att definiera vilka bakterier som associeras med en vallfoderbaserad foderstat. Förändringar i träckens och kolons mikrobiota påvisades vid abrupta byten mellan olika typer av vallfoder. Vidare studier krävs för att utreda vad de påvisade förändringarna innebär för hästens hälsa, då det i dagsläget inte kan dras några generella slutsatser utifrån de resultaten.

Nyckelord: bakterie, ensilage, grovtarm, hö, hösilage, kolon, träck, utfodring

Abstract

The horse is a hindgut fermenter adapted for high-fiber diet. A large number of microbes participate in the breakdown of forage and mainly in the horse's large intestine. At present knowledge on the precise function of different intestinal microbes in horses is scarce, which has resulted in an increased interest in research within the area. Most studies have shown that type of diet affects the relative abundance of different microbes. The purpose of this literature study was to compile results from studies which has focused on the intestinal microbiota in horses on forage based diets. The results from this work show only a few studies that focused on the intestinal microbiota in horses on different types of only forage diets. As a conclusion of this literature study, it is difficult to define bacterias who is associated with a forage based diet. Changes in the microbiota of faeces and colon were detected during abrupt switching between different types of forage. Further studies are required to investigate what the demonstrated changes mean for the horse's health, as at present no general conclusions can be drawn based on those results.

Keywords: bacteria, colon, faeces, feeding, hay, haylage, hindgut, silage

Innehållsförteckning

1.	Inledning	7
2.	Metod.....	9
3.	Litteraturöversikt	10
3.1.	Hästens endogena digestion	10
3.2.	Mikrobiell fermentation	10
3.3.	Andra faktorer som påverkar tarmmikrobiotan	11
3.4.	Att studera tarmmikrobiotan	12
3.5.	Vallfodrets kemiska och mikrobiella sammansättning	12
3.5.1.	Bete.....	12
3.5.2.	Inplastat vallfoder och hö.....	13
3.6.	Bakteriell komposition i träck och högra ventrala kolon	14
3.6.1.	Vallfoder och bete	14
3.6.2.	Abrupta foderbyten	15
4.	Diskussion.....	17
4.1.	Relativ förekomst av bakterier i träck	17
4.2.	Påverkan av abrupta byten.....	18
4.3.	Andra faktorer.....	19
4.4.	Slutsats	20
5.	Referenslista	21

1. Inledning

Hästens mag-tarmkanal är evolutionärt utvecklad och anpassad för en diet bestående av varierande arter av gräs med ett lågt energinnehåll och ett högt fiberinnehåll (Davies 2018). Hästar som lever i det vilda spenderar omkring 16h till födosök och födointag (Davies 2018). För att hästen ska kunna tillgodose sitt energibehov på en energifattig och fiberrik foderstat har hästens grovtarm en mycket avgörande roll (Davies 2018). Genom mikrobiell fermentation av fibrer, främst i grovtarmen, produceras flyktiga fettsyror (VFA) vilka sedan används som hästens huvudsakliga energikälla (Costa *et al.* 2012). Hos hästar på vallfoderbaserade foderstater kan produktionen av VFA tillgodose upp till 70% av hästens energibehov (Fernandes *et al.* 2014).

Det finns mängder av mikrober genom hela hästens magtarmkanal (Costa *et al.* 2015) men i dagsläget stora kunskapsluckor om dess specifika funktioner trots förståelsen för mikrobernas viktiga roll i hästens digestion (Shepherd *et al.* 2012). Till följd har tarmmikrobiotans komposition och variation under olika förhållanden fått ett ökat forskningsintresse senaste åren (Kauter *et al.* 2019; Mach *et al.* 2020). Tidigare studier har beskrivit att det förekommer skillnader i de mikrobiella populationernas sammansättning i grovtarmen mellan exempelvis individer, olika raser och olika inhysningsformer (Fernandes *et al.* 2014). Foderstatens kemiska sammansättning har visat sig inverka på tarmmikrobiotans komposition (Dougal *et al.* 2014; Hansen *et al.* 2015). Skillnader i tarmmikrobiota har påvisats hos hästar vilka utfodras med fiberrika foderstater jämfört med foderstater som innehåller en hög andel stärkelse (Willing *et al.* 2009). Ett abrupt inslag i foderstaten av stora mängder icke strukturella kolhydrater har associerats till sjukdomar som exempelvis kolik, fång, metabolisk acidosis samt störningar i den mikrobiella kompositionen (Fernandes *et al.* 2014). Även en ökad relativ förekomst av bakterier, i jämförelse med friska hästar, har påvisats i träck hos hästar som utvecklat kolik (Stewart *et al.* 2020) och i blindtarm vid inducerad fång (Milinovich *et al.* 2008).

Det finns i dagsläget inte mycket studier som fokuserat på hur byten mellan olika typer av vallfoder kan påverka hästens tarmmikrobiota (Garber *et al.* 2020), trots att abrupta byten mellan olika typer av foder är en välkänd faktor associerad med grovtarmsstörningar hos häst (Fernandes *et al.* 2014). Studier vilka fokuserar på hästar som utfodrats med enbart vallfoder är bristfällig, särskilt i förhållande till studier som fokuserat på inverkan av exempelvis stärkelsesrika foderstater (Garber *et al.* 2020). Syftet med den här litteraturstudien är att sammanfatta resultat från ett urval av studier med fokus på hästens tarmmikrobiota vid utfodring av foderstater som endast utgörs av vallfoder. För att ta reda på det har följande frågeställningar undersökts:

- Vilka typer av bakterier i hästens grovtarm associeras med en vallfoderbaserad foderstat?
- Hur påverkas förekomsten av dessa bakterier vid utfodring av olika typer av vallfoder?
- Hur påverkas förekomsten av bakterierna vid abrupta byten mellan olika typer av vallfoder?

2. Metod

Arbetet är utformat som en litteraturstudie där litteratursökning genomfördes via databaserna PubMed, Google Scholar och Web of Science. I databasernas sökfunktion användes, både enskilt och kombinerat med andra, orden: abrupt, bacteria, change, equine, feed, forage, gastrointestinal, grass, gut, horse, intestinal, microbiome, microbiota, pasture, pony, roughage och variation. Information från vetenskapliga artiklar och e-böcker sammanställdes och utgjorde grund för diskussion.

3. Litteraturöversikt

3.1. Hästens endogena digestion

Digestionen startar i hästens munhåla där finfördelning av intagen föda sker genom tuggning vilket möjliggör en effektiv enzymatisk och mikrobiell digestion vidare i mag-tarmkanalen (Merritt & Julliand 2013). Saliven som utsöndras i munhålan innehåller en försumbar enzymkoncentration vilket gör att det inte sker någon betydande enzymatisk digestion i munhålan (Merritt & Julliand 2013; Davies 2018). Saliven har en smörjande effekt på digestan vilket underlättar passagen via foderstrupen ner till magsäcken och saliven neutraliserar även saltsyran som utsöndras i hästens magsäck (Merritt & Julliand 2013; Davies 2018). Salivproduktionen styrs till stor del av antalet tuggningar och antalet är högre vid intag av vallfoder jämfört med kraftfoder (Merritt & Julliand 2013).

Magsäcken utgör ungefär 8% av magtarmkanalen vilket gör det till en förhållandevis liten del i jämförelse med resterande regioner i mag-tarmkanalen (Merritt & Julliand 2013; Davies 2018). Digestan befinner sig i magsäcken under en relativt kort tidsperiod vilket inte möjliggör någon större nedbrytning av näringsämnen (Davies 2018). Det sker en förhållandevis liten mikrobiell fermentering av bakterier (Davies 2018) som tolererar det låga pH-värdet i magsäcken (Ericsson *et al.* 2016). Mikrobiotans komposition i magsäcken varierar mellan hästar i större utsträckning jämfört med mikrobiotan i grovtarmen (Costa *et al.* 2015; Ericsson *et al.* 2016).

I tunntarmen sker den primära enzymatiska nedbrytningen av icke strukturella kolhydrater, fett och protein (Merritt & Julliand 2013; Davies 2018). De bakterier som dominerar i tunntarmen är framför allt de som deltar i nedbrytningen av icke strukturella kolhydrater och det förekommer låga koncentrationer av fibrolytiska bakterier (Merritt & Julliand 2013). Digestans passagehastighet genom magsäck och tunntarm varierar mellan 4-7h beroende på exempelvis foderstatens kemiska komposition och födoingetgets storlek (Merritt & Julliand 2013). Utsöndring av amylas är begränsad i tunntarmen. Detta gör att utfodring av en för stor mängd icke strukturella kolhydrater passerar ospjälkade till grovtarmen (Julliand 2005).

3.2. Mikrobiell fermentation

Hästen är en grovtarmsjäsnare och är anpassad för en fiberrik foderstat (Davies 2018). I grovtarmen sker den mikrobiella fermentationen av strukturella

kolhydrater (Fernandes *et al.* 2014) och grovtarmen utgör 2/3 av mag-tarmkanalen och består av blindtarm och kolon (Daly *et al.* 2001). Kolon delas in i högra och vänstra dorsala samt högra och vänstra ventrala kolon (Merritt & Julliand 2013). Den mikrobiella fermentationen sker i både blindtarm och kolon (Merritt & Julliand 2013) och det tar mellan 23-48h för digestan att passera hela grovtarmen (Shepherd *et al.* 2012). Passagehastigheten påverkas av exempelvis mängd torrsubstans (ts) i foderintaget (Drogoul *et al.* 2001) och fodrets partikelstorlek (Merritt & Julliand 2013). De kroppsegna enzymerna kan inte bryta ned de strukturella kolhydraterna, vilket leder till att den fibrolytiska aktiviteten beror på sammansättningen av tarmmikrobiotan (Davies 2018).

Bakterier, protozoer, svampar och arkéer är några av mikroorganismerna som påvisats i hästens mag-tarmkanal (Fernandes *et al.* 2014). Bakterier kan utgöra 72.6% av totala antalet sekvenser av mikroberna som befinner sig i träcken (Fernandes *et al.* 2014). De fibrolytiska bakterierna deltar i nedbrytningen av strukturella kolhydrater, exempelvis cellulosa och hemicellulosa, vilka växtcellsväggarna består av (Jouany *et al.* 2009). Genom hydrolys av polysackariderna i växtcellsväggarna framställs glukos som fermenteras till flyktiga fettsyror (VFA), exempelvis ättiksyra, propionsyra och smörsyra (Jouany *et al.* 2009). Släktet *Fibrobacter* (tillhör fylum *Fibrobacteres*) och familjen *Ruminococcaceae* (tillhör fylum *Firmicutes*) är strikta fibrolytiska bakterier (Daly *et al.* 2012). När pH sänks i grovtarmen hämmas tillväxten av dessa bakterier (Daly *et al.* 2012).

Hos hästar som utfodras med vallfoderbaserade foderstater produceras små mängder laktat av mikroberna i grovtarmen (Merritt & Julliand 2013). När en för stor mängd icke-strukturella kolhydrater träder in i grovtarmen ökar antalet laktatproducerande bakterier, exempelvis *Streptococcus* spp. och *Lactobacillus* spp. Detta leder till en ökad laktatkoncentration vilket kan orsaka pH-sänkning (Dougal *et al.* 2013). När två foderstater med högt respektive lågt innehåll av stärkelse jämfördes rapporterades i blindtarmen en reducerad mikrobiell mångfald och stabilitet vid utfodring av foderstaten med högt stärkelseinnehåll (Hansen *et al.* 2015). En stabil mikrobiell komposition kan enligt Dougal *et al.* (2017) definieras som att den relativa förekomsten av specifika mikrober är förhållandevis stabil över en bestämd tidsperiod.

3.3. Andra faktorer som påverkar tarmmikrobiotan

Utöver den kemiska sammansättningen i fodret påvisade exempelvis en studie att hård fysisk ansträngning kan påverka förekomsten av fyla *Firmicutes* och *Bacteroidetes* i träcken (Górniak *et al.* 2021). Förändringar i den bakteriella

kompositionen i träcken till följd av höga temperaturer och regn har dokumenterats (Salem *et al.* 2018). Hos äldre hästar har en mindre mångfaldig mikrobiota i träcken beskrivits (Dougal *et al.* 2014) och skillnader mellan individ, ras och typ av inhyssning även beskrivits i träcken (Fernandes *et al.* 2014).

3.4. Att studera tarmmikrobiotan

De metoder som används för att studera tarmmikrobiotan kan påverka resultatet (Costa & Weese 2018). Tidigare beskrivningar av mikrobiotan i hästens mag-tarmkanal har utförts genom odlingsbaserade metoder (Costa & Weese 2018). Dock är en del mikrober komplexa och kräver specifika levnadsförhållanden vilket leder till att det är svårt eller omöjligt att odla dem i laboratoriemiljöer (Fernandes *et al.* 2014). I dagsläget finns det möjligheter att använda icke odlingsbaserade metoder, DNA-sekvenseringsmetoder, för att studera hästens mikrobiota i både tarm och träck (Costa & Weese 2018). Dock kan analys av mikrobiotan med sekvensering också resultera i att bakterier kan underrepresenteras i resultatet (Shepherd *et al.* 2012). Sekvenseringsmetoder kan kombineras med att studera bakteriers tillväxt och aktivitet genom att mäta koncentrationen av produkter som bildas av bakterierna (Hansen *et al.* 2015).

Vid analys av mikrobiotan i träck krävs inget invasivt ingrepp vilket gör det mer lättillgängligt jämfört med analys baserat på lumbalt innehåll från blindtarm och kolon (Costa *et al.* 2015). Det förekommer förhållandevis små skillnader med avseende på mikrobiotan när den studeras på fylumnivå mellan träck, kolon och blindtarm (Dougal *et al.* 2013). I en studie har det dock visat sig att desto lägre taxonomiska nivåer som studeras i grovtarmen desto större skillnader är det mellan regionerna med avseende på relativ förekomst av olika bakteriearter (Costa *et al.* 2015).

3.5. Vallfodrets kemiska och mikrobiella sammansättning

3.5.1. Bete

Faktorer som påverkar betets kemiska sammansättning är främst de växtarter som förekommer på betet. Andra faktorer är väderlek, typ av jord samt jordens vatten- och näringstillgång (Särkijärvi *et al.* 2012). Till följd av att växten med tiden utvecklas förändras den kemiska kompositionen därefter (Longland 2012). När växten mognar ökar innehållet av cellulosa, hemicellulosa och lignin samtidigt som

en reducering av halten protein och icke-strukturella kolhydrater sker (Longland 2012). Betets innehåll av lättlösliga kolhydrater (WSC) kan variera över dygnet (Fernandes *et al.* 2014)

I en studie togs prover från en betesmark under tiden när hästar betade från Maj till September (Särkijärvi *et al.* 2012). Resultat visade att ts-halten i betet varierade mellan 133 g/kg till 317 g/kg under säsongen (Särkijärvi *et al.* 2012). Resultaten visade även att innehållet av råprotein (RP) var 195 g/kg ts under tidig säsong, vilket sedan minskade under mittperioden till 145 g/kg ts, och ökade sedan till 216 g/kg ts under den senare säsongen (Särkijärvi *et al.* 2012). Över betessäsongen minskade innehållet av lättlösliga kolhydrater (WSC) successivt från den tidiga (238 g/kg ts) till den senare betessäsongen (59 g/kg ts) (Särkijärvi *et al.* 2012). Andel neutral detergent fiber (NDF) ökade desto längre in på betessäsongen proverna togs (Särkijärvi *et al.* 2012).

3.5.2. Inplastat vallfoder och hö

Vallfodrets kemiska sammansättning påverkas också av flertalet faktorer, exempelvis konserveringsmetod (Müller *et al.* 2008) och skördetidpunkt, se tabell 1 (Müller 2012). Ts-halten påverkar konserveringsmetoden där ensilage har en lägre ts-halt med mindre än 500 g/kg, hösilage över 500 g/kg och hö över 840 g/kg (Müller 2018). Ensilage och hösilage lagras anaerobt och ensilage utmärker sig genom en högre koncentration laktat och antal laktatproducerande bakterier jämfört med hö och hösilage (Müller *et al.* 2008). Detta till följd av att ensilage har ett högre vatteninnehåll vilket ger bättre förutsättningar för fermentationsprocessen (Müller 2018).

Tabell 1. Exempel på kemisk komposition (g/kg ts om inget annat anges) och pH i tre hösilage från samma vall med olika skördetidpunkter (Müller 2012)

	Torrsubstans (g/kg)	Råprotein	Lättlösliga kolhydrater	Neutral Detergent Fibre	pH
Juni	549	130	101	522	5,79
Juli	573	93	73	610	5,73
Augusti	583	80	49	637	6,10

3.6. Bakteriell komposition i träck och högra ventrala kolon

3.6.1. Vallfoder och bete

Det har beskrivits skillnader med avseende på den relativa förekomsten av bakterier i träcken hos hästar som utfodrats med antingen hö, ensilage eller bete (Zhu *et al.* 2021). Ensilaget och höet som användes i studien skördades från samma bete vilket användes i försöket (Zhu *et al.* 2021). Totalt ingick 36 hästar vilka delades in i tre grupper som utfodrades med en av de tre fodertyperna under 8 veckor (Zhu *et al.* 2021). Träckprover (n=108) samlades in under de tre sista dagarna av försöket och analyserades med sekvensering och fem bakteriella fyla hade en relativ förekomst >1%. Resultat påvisade skillnader i relativ förekomst av fyla *Verrucomicrobia*, *Spirochaetes* och *Actinobacteria* (Zhu *et al.* 2021). Vid utfodring av hö hade *Verrucomicrobia* en relativ förekomst på 7.3%, *Spirochaetes* 3.1% och *Actinobacteria* 1.3%. Vid utfodring av ensilage var proportionerna av samma fyla 4.2%, 2.3% och 1.4% och vid utfodring i form av bete 7.6%, 2.3% och 1.0% (Zhu *et al.* 2021). *Firmicutes* (58.1-62.4%) och *Bacteroidetes* (22.0-27.7%) hade högst relativ förekomst i träcken oberoende av foderstat och det fanns ingen skillnad mellan grupperna (Zhu *et al.* 2021). En positiv korrelation mellan den relativa förekomsten av fylum *Fibrobacteres* och ts-halt i fodret registrerades i studien (Zhu *et al.* 2021). Den relativa förekomsten av *Fibrobacteres* vid utfodring av hö var 0.4%, ensilage 0.3% och bete 0.07%. Dock krävs vidare studier för att utreda *Fibrobacteres* relation till olika fodertypers ts-halt (Zhu *et al.* 2021).

Den bakteriella populationen i träcken hos två hästar som utfodrades med enbart hö under 28-dagar beskrevs i en studie (Shepherd *et al.* 2012). Sekvensering av träckprover (n=4) resulterade i totalt 10 fyla med en relativ förekomst >0.1%. De fem fyla med högst relativ förekomst i hästarnas träck var *Firmicutes* (43.7%), *Verrucomicrobia* (4.1%), *Proteobacteria* (3.8%), *Bacteroidetes* (3.7%) och *Spirochaetes* (2.1%) (Shepherd *et al.* 2012).

Förändringar i träckens mikrobiota har påvisats hos hästar vilka hållits permanent på bete under en 52-veckorsperiod (Salem *et al.* 2018). Träckprov (n=166) från sju hästar samlades var 14:e dag under studiens 52 veckor. Resultatet visade genom sekvensering att sex bakteriella fyla hade en relativ förekomst med ett medelvärde >1% under betesperioden. Dessa var *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fibrobacteres*, *Spirochaetes*, *Verrucomicrobia* och *Proteobacteria*. *Firmicutes* och *Bacteroidetes* var de fyla med högst relativ förekomst i alla träckprover (Salem *et al.* 2018). Under betesperioden registrerades förändringar med avseende på den relativa förekomsten av *Firmicutes* (22.7-44.0%), *Fibrobacteres* (3.5-23.0%), *Spirochaetes* (4.3-15.5%)

och *Verrucomicrobia* (1.0-5.3%). *Bacteroidetes* (33.1- 48.9%) och *Proteobacteria* (1.0-2.0%) hade en mer stabil förekomst över hela perioden jämfört med de andra fylum vilka förekom >1% (Salem *et al.* 2018). Hos alla hästar som ingick i studien kunde en reducerad relativ förekomst av *Firmicutes* och *Verrucomicrobia* registreras, samtidigt som en ökning av *Fibrobacteres* och *Spirochaetes* inträffade. Den relativa förekomsten av *Fibrobacteres* och *Spirochaetes* ökade när hösilage introducerades i samband med minskad betestillgång (Salem *et al.* 2018).

3.6.2. Abrupta foderbyten

Det har påvisats förändringar i träckens mikrobiota i en studie hos hästar under ett abrupt byte mellan bete och hö (Garber *et al.* 2020). Träckprover (n=66) samlades in från sex hästar. De bakteriella fyla som påträffades genom sekvensering, och hade en relativ förekomst >5%, var *Bacteroidetes* (32.9-39.1%), *Firmicutes* (28.0-38.6%), *Verrucomicrobia* (9.4-16.9%), *Spirochaetes* (4.6-10.7%) och *Fibrobacteres* (3.3-10.5%) (Garber *et al.* 2020). Resultat från studien visade att *Bacteroidetes* och *Firmicutes* hade högst relativ förekomst oavsett utfodring av hö eller bete och tidpunkt (Garber *et al.* 2020). *Firmicutes* hade näst högst relativ förekomst i alla prover, men hade en högre förekomst än *Bacteroidetes* under de första dagarna efter foderbyte från bete till hö och tvärtom. *Firmicutes* relativa förekomst 3 dagar efter byte från bete till hö var 38.6% och *Bacteroidetes* 34.7%. Dag 3 efter bytet från hö till bete var *Firmicutes* 35.3% och *Bacteroidetes* 33.0% (Garber *et al.* 2020). Det registrerades skillnader i förekomsten av *Spirochaetes* 14 dagar efter bytet både från hö och bete. *Spirochaetes* hade en högre relativ förekomst 14 dagar efter övergång från bete till hö (10.5%) jämfört med 14 dagar efter övergång från hö till bete (5.8%) (Garber *et al.* 2020). Utfodring av hö eller bete samt tidpunkt för provtagning påverkade inte den relativa förekomsten av *Fibrobacteres* i förhållande till de andra fylumen (Garber *et al.* 2020). *Lactobacillus* spp. tillhörande fylum *Firmicutes* ökade i träcken under dag 2 efter bytet från hö till bete (Garber *et al.* 2020). Till följd av detta diskuterade författarna om det eventuellt kan finnas risk för att pH sänks i grovtarmen vid ett byte från hö till bete. Detta för att *Lactobacillus* spp. är laktatproducerande (Garber *et al.* 2020). Förändringarna i den relativa förekomsten av *Bacteroidetes* och *Firmicutes* som registrerades inträffade främst under de första dagarna efter ett abrupt foderbyte. Detta diskuterade författarna om det var på grund av det abrupta foderbytet och inte fodret i sig, och att *Firmicutes* eventuellt kan ha en högre kapacitet än *Bacteroidetes* att anpassa sig till ett abrupt foderbyte (Garber *et al.* 2020).

I en studie av Muhonen *et al.* (2008) jämfördes utfodring av två ensilage med olika innehåll av RP med avseende på antal bakterier i högra ventrala kolon (RVC). I studien analyserades antal anaeroba, cellulolytiska, laktatutnyttjande och proteolytiska bakterier. Även *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. och VFA-

koncentrationen undersöktes (Muhonen *et al.* 2008). De fyra hästarna i studien genomgick abrupta byten mellan de två olika ensilagen, foderstaterna innehöll 615 g respektive 873 g RP per dag. Under det första dygnet efter abrupt byte från ensilage med lägre till högre RP-innehåll beskrevs ett högre antal anaeroba bakterier och *Lactobacillus* spp.. Detta registrerades inte under de andra provtagningsdagarna (Muhonen *et al.* 2008). Observationer 22 dagar efter det abrupta bytet visade en ökad total VFA koncentration och ett lägre pH i RVC när ensilage med högre RP jämfört med lägre utfodrades (Muhonen *et al.* 2008). Till följd av den högre VFA koncentrationen som registrerades uteslöt författarna inte att andra bakterier vilka inte odlats i studien hade en förändrad aktivitet (Muhonen *et al.* 2008).

Skillnader med avseende på antal bakterier i träcken har påvisats vid abrupta byten mellan hö, hösilage och ensilage från samma skörd (Müller *et al.* 2008). Analys genomfördes av cellulolytiska, laktatproducerande och laktatutnyttjande bakterier samt fermentationsprodukter i RVC och träcken (Müller *et al.* 2008). Trots skillnader i mikrobiell och kemisk komposition mellan fodertyperna resulterade inte utfodringen i skillnader med avseende på fermentationsprodukter i regionerna. Däremot rapporterades ett högre antal *Streptococcus* spp. i träcken när hästarna utfodrades med hö och ett lägre antal i RVC när hösilage utfodrades (Müller *et al.* 2008). I en annan studie jämfördes också utfodring av hö, hösilage och ensilage från samma skörd (Muhonen *et al.* 2009). Prover från RVC analyserades. Resultat från odling visade att antal *Streptococcus* spp. reducerades i prover från RVC dag 21 efter ett abrupt byte från hö till hösilage (Muhonen *et al.* 2009). I samma studie rapporterades även ett ökat antal *Lactobacillus* spp. dag 15 och 21 när hästarna utfodrades med ensilage jämfört med hö och hösilage (Muhonen *et al.* 2009). Däremot fanns inga skillnader mellan fodertyperna med avseende på VFA koncentration, samt antal cellulolytiska, laktatproducerande eller laktatutnyttjande bakterier i RVC (Muhonen *et al.* 2009).

4. Diskussion

4.1. Relativ förekomst av bakterier i träck

Det var fyra bakteriella fyla som hade en relativ förekomst >1% i träcken i alla studier som fokuserat på olika vallfoderbaserade foderstater vilka genomförde sekvensanalys. Dessa var *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Spirochaetes* och *Verrucomicrobia* (Shepherd *et al.* 2012; Salem *et al.* 2018; Garber *et al.* 2020; Zhu *et al.* 2021). I alla studier förutom Shepherd *et al.* (2012) studie, var i regel *Firmicutes* och *Bacteroidetes* de fyla med högst relativ förekomst i träcken oavsett utfodring. Vad som resulterade i en låg relativ förekomst av *Bacteroidetes* i förhållande till de andra studierna är oklar. I Shepherd *et al.* (2012) studie var det endast två hästar och fyra träckprover som bidrog till resultatet. Det har rapporterats variationer mellan individer (Salem *et al.* 2018; Garber *et al.* 2020) vilket gör att ett fler antal hästar i försöket hade kunnat tillföra mer information. Detta för att resultatet ska ha bättre förutsättningar för att representera artens mikrobiella komposition i stället för enskilda individers mikrobiota.

I studien av Zhu *et al.* (2021) jämfördes träckens mikrobiota under utfodring av bete, ensilage och hö och skillnader mellan fodertyperna påvisades. En svaghet i studien var dock att analys av träckens mikrobiota inte togs innan försöket påbörjades. Detta hade kunnat bidra med mer uppgifter till om dessa skillnader förekom redan innan hos individerna vilka ingick i grupperna. Något som också hade kunnat säkerställa skillnaderna ytterligare är om alla hästar som ingick i studien utfodrats under lika lång period med alla fodermedel. Detta för att eventuellt påvisa om skillnaderna i Zhu *et al.* (2021) studie kunde upptäckas i alla försöksgrupper.

Utifrån denna litteraturstudie är det svårt att hitta en association mellan en viss typ av bakteriell sammansättning och fodertyp. Det verkar inte finnas någon specifik mikrobiota, i träcken i det här fallet, som skulle vara absolut för en foderstat som endast utgörs av vallfoder. Under litteratursökningen hittades endast ett fåtal studier som undersökt mikrobiotan i grovtarmen och träcken hos hästar som endast utfodrats med vallfoder. Att det oftast förekommer ett fåtal hästar i försöken bidrar också till att resultaten inte möjliggör några övergripande slutsatser.

4.2. Påverkan av abrupta byten

Abrupta byten mellan olika typer av vallfoder har visat sig ha olika effekter på den bakteriella populationen i träcken och kolon. En ökad relativ förekomst av *Lactobacillus* spp. rapporterades av Garber *et al.* (2020) under ett abruptt byte från hö till bete. Författarna diskuterade om detta kunde resultera i sänkt pH i grovtarmen till följd av en ökad laktatproduktion. I studien av Muhonen *et al.* (2009) rapporterades ett ökat antal *Lactobacillus* spp. efter ett byte från hö till hösilage eller ensilage och ett ökat antal påvisades även dagen efter vid utfodring av en foderstat med högre RP (Muhonen *et al.* 2008). Dock påvisade inte dessa studier (Muhonen *et al.* 2008; 2009) skillnader i laktatkoncentrationen eller pH i RVC och träck i samband med ett högre antal *Lactobacillus* spp. En ökad förekomst av *Lactobacillus* spp. behöver inte, utifrån antalen som rapporterats i Muhonen *et al.* (2008; 2009), resultera i sänkt pH och förhöjd laktatkoncentration i RVC och träck.

Det verkar som att antalet *Streptococcus* spp. ökar i RVC (Muhonen *et al.* 2009) och träck (Müller *et al.* 2008) vid utfodring av hö i jämförelse med hösilage och ensilage. Dock påvisades inga skillnader med avseende på pH och fermentationsprodukter i samband med den ökade förekomsten (Müller *et al.* 2008; Muhonen *et al.* 2009). Utifrån detta verkar det inte finnas risk för exempelvis nedsatt bakteriell fibrolytisk aktivitet, vilket kan ske vid reducerat pH i grovtarmen. En del av de refererade studierna (Müller *et al.* 2008; Muhonen *et al.* 2008; 2009) har dock använt odlingsbaserade metoder vilket gör att det inte helt säkert går att utesluta att andra bakterier utöver de som odlats påverkats.

Utifrån Salem *et al.* (2018) studie så kan det vara möjligt att det inte sker lika omfattande förändringar i tarmmikrobiotan till följd av förändringar i den kemiska kompositionen i betet över en betessäsong. En kontinuerlig variation i bakteriernas relativa förekomster registrerades över betesperioden men en mer markant förändring syntes när hösilage började utfodras i samband med att betestillgången minskade (Salem *et al.* 2018). Förändringarna som sker i betets kemiska sammansättning över tid kan vara jämförelsevis små i relation till mikrobiotan i träcken och detta i förhållande till ett abruptt inslag av ett foder med en eventuell skild kemisk sammansättning. Garber *et al.* (2020) studerade också hästar vilka hölls på bete, men under en kortare period. Till följd så kan resultatet från den studien inte påvisa om de hästarna också visade ett mönster av kontinuerliga förändringar över en betesperiod och en mer markant förändring vid en abrupt introduktion av ny fodertyp.

I Garber *et al.* (2020) studie diskuterade författarna om *Firmicutes* hade en högre kapacitet att anpassa sig till ett foderbyte jämfört med *Bacteroidetes*. Om det i

framtida studier går att identifiera vilka bakterier som har bättre respektive sämre förutsättningar för att anpassa sig under ett abrupt foderbyte kan det eventuellt finnas möjligheter för att hitta individer som, genom sin specifika sammansättning av tarmmikrobiota, har olika förutsättningar för att anpassa sig till ett abrupt foderbyte. För att undersöka detta krävs dock vidare studier där frekventa provtagningsintervall sker hos hästar som utsätts för abrupta foderbyten.

Abrupta foderbyten mellan olika typer av vallfoder har därmed resulterat i förändringar av bakteriers förekomst, men vad dessa förändringar innebär går ej att fastställa med säkerhet i nuläget. I studierna upptäcktes inga symtom hos hästarna vilka skulle indikera på en eventuell mikrobiell obalans. Vidare studier där den relativa förekomsten av bakterier i samband med mätningar av VFA koncentration och pH undersöks kan genomföras för att få en utökad förståelse för vad påvisade förändringar kan innebära för ekosystemet i hästens grovtarm.

Att redovisa fodrets kemiska sammansättning, vilket använts i studien, bör också inkluderas i framtida studier. I flertalet av presenterade studier finns det ej redovisat. Detta för att eventuellt hitta samband till kompositionen i fodret och relativa förekomster av bakterier, då kopplingar till sammansättningen har påvisats i studier vilka undersökt exempelvis stärkelsesrika dieter (Hansen *et al.* 2015). Till följd av att hö, hösilage, ensilage och bete kan skilja sig åt med avseende på kemisk komposition kan det också vara till en fördel att diskutera i framtida studier förs utifrån grovfoderanalysen och inte fodertypen.

I de flesta av de refererade studierna har träckens mikrobiota studerats. I och med att träcken inte alltid kan representera alla regioner i grovtarmen går det inte att utesluta att andra resultat hade påvisats om prov från grovtarmregionernas luminala innehåll hade analyserats. Det kan dock finnas problematik med att fistulera hästar som ska fungera som sport- och sällskapsdjur efter utfört försök. Det kan även finnas en emotionell problematik hos exempelvis hästägare med att låta avliva sin friska häst för att möjliggöra studier av alla mag-tarmkanalens regioner vilket utfördes i studien av Ericsson *et al.* (2016).

4.3. Andra faktorer

Att inkludera flertalet faktorer i studier vilka fokuserar på fodrets inverkan på tarmmikrobiotan kan inkluderas i framtida försök. Detta för att kunna utesluta, om förändringar påvisats, har varit till följd av andra faktorer vilka påverkar tarmmikrobiotan (Dougal *et al.* 2014; Fernandes *et al.* 2014; Salem *et al.* 2018; Górnaiak *et al.* 2021) utöver foderstaten.

Det är av betydande vikt att även belysa att en del av de refererade studierna (Shepherd *et al.* 2012; Garber *et al.* 2020; Zhu *et al.* 2021) kartlagt bakterier på lägre taxonomiska nivåer, som exempelvis familj och släkte. Om förändringar inte påvisats på till exempel fylumnivå kan fortfarande förändringar i de relativa förekomsterna av familj och släkte tillhörandes samma fylum inträffat. Det går inte att helt utesluta att förändringar på lägre taxonomiska nivåer inträffat om skillnader inte påvisats om beskrivningar sker på endast fylumnivå. Till följd kan därmed beskrivningar av lägre taxonomiska nivåer eventuellt ge vidare information om förändringar i tarmmikrobiotan.

4.4. Slutsats

Vilka bakterier som specifikt är associerade med en vallfoderbaserad foderstat är utifrån den här litteraturstudien svårt att bedöma. Skillnader har påvisats i bakteriernas relativa förekomster mellan olika typer av vallfoder. Den relativa förekomsten av bakterier påverkas utifrån de refererade studierna av abrupta foderbyten mellan olika typer av vallfoder. Det krävs ett bredare underlag av studier och vidare forskning för att kunna besvara dessa frågeställningar med mer säker grund och vidare för att även utreda hur påvisade förändringar påverkar hästens hälsa.

5. Referenslista

- Costa, M.C., Arroyo, L.G., Allen-Vercoe, E., Stämpfli, H.R., Kim, P.T., Sturgeon, A. & Weese, J.S. (2012). Comparison of the Fecal Microbiota of Healthy Horses and Horses with Colitis by High Throughput Sequencing of the V3-V5 Region of the 16S rRNA Gene. *PLoS ONE*, 7 (7), e41484. <https://doi.org/doi:10.1371/journal.pone.0041484>
- Costa, M.C., Silva, G., Ramos, R.V., Staempfli, H.R., Arroyo, L.G., Kim, P. & Weese, J.S. (2015). Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. *The Veterinary Journal*, 205 (1), 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.03.018>
- Costa, M.C. & Weese, J.S. (2018). Understanding the Intestinal Microbiome in Health and Disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 34 (1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2017.11.005>
- Daly, K., Proudman, C.J., Duncan, S.H., Flint, H.J., Dyer, J. & Shirazi-Beechey, S.P. (2012). Alterations in microbiota and fermentation products in equine large intestine in response to dietary variation and intestinal disease. *British Journal of Nutrition*, 107 (7), 989–995. <https://doi.org/10.1017/S0007114511003825>
- Daly, K., Stewart, C.S., Flint, H.J. & Shirazi-Beechey, S.P. (2001). Bacterial diversity within the equine large intestine as revealed by molecular analysis of cloned 16S rRNA genes. *FEMS Microbiology Ecology*, 38 (2–3), 141–151. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00892.x>
- Davies, Z. (2018). *Equine Science*. 3. ed. John Wiley & Sons, Incorporated.
- Dougal, K., de la Fuente, G., Harris, P.A., Girdwood, S.E., Pinloche, E., Geor, R.J., Nielsen, B.D., Schott II, H.C., Elzinga, S. & Newbold, C.J. (2014). Characterisation of the Faecal Bacterial Community in Adult and Elderly Horses Fed a High Fibre, High Oil or High Starch Diet Using 454 Pyrosequencing. *PLoS ONE*, 9 (2), e87424. <https://doi.org/doi:10.1371/journal.pone.0087424>
- Dougal, K., de la Fuente, G., Harris, P.A., Girdwood, S.E., Pinloche, E. & Newbold, C.J. (2013). Identification of a Core Bacterial Community within the Large Intestine of the Horse. *PLoS ONE*, 8 (10), e77660. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077660>
- Drogoul, C., de Fombelle, A. & Julliand, V. (2001). Feeding and microbial disorders in horses: 2: Effect of three hay:grain ratios on digesta passage rate and digestibility in ponies. *Journal of Equine Veterinary Science*, 21 (10), 487–491. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(01\)70211-0](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(01)70211-0)
- Ericsson, A.C., Johnson, P.J., Lopes, M.A., Perry, S.C. & Lanter, H.R. (2016). A Microbiological Map of the Healthy Equine Gastrointestinal Tract. *PLoS ONE*, 11 (11), e0166523. <https://doi.org/doi:10.1371/journal.pone.0166523>
- Fernandes, K.A., Kittelmann, S., Rogers, C.W., Gee, E.K., Bolwell, C.F., Bermingham, E.N. & Thomas, D.G. (2014). Faecal Microbiota of Forage-Fed Horses in New Zealand and the Population Dynamics of Microbial

- Communities following Dietary Change. *PLoS ONE*, 9 (11), e112846. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112846>
- Garber, A., Hastie, P., McGuinness, D., Malarange, P. & Murray, J.-A. (2020). Abrupt dietary changes between grass and hay alter faecal microbiota of ponies. *PLoS ONE*, 15 (8), e0237869. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237869>
- Górniak, W., Cholewińska, P., Szeligowska, N., Wołoszyńska, M., Soroko, M. & Czyż, K. (2021). Effect of Intense Exercise on the Level of Bacteroidetes and Firmicutes Phyla in the Digestive System of Thoroughbred Racehorse. *Animals*, 11 (2), 290. <https://doi.org/10.3390/ani11020290>
- Hansen, N.C., Avershina, E., Mydland, L.T., Næset, J.A., Austbø, D., Moen, B., Måge, I. & Rudi, K. (2015). High nutrient availability reduces the diversity and stability of the equine caecal microbiota. *Microbial ecology in health & disease*, 26 (1), 27216. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.27216>
- Jouany, J.-P., Medina, B., Bertin, G. & Julliand, V. (2009). Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their polysaccharidase and glycoside hydrolase activities in horses fed a high-fiber or high-starch diet. *Journal of Animal Science*, 87, 2844–2852. <https://doi.org/doi:10.2527/jas.2008-1602>
- Julliand, V. (2005). Impact of nutrition on the microflora of the gastrointestinal tract in horses. In: Lindner, A. (ed.) *Applied equine nutrition*. 1. ed Wageningen: Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 85–103
- Kauter, A., Epping, L., Semmler, T., Antao, E.-M., Kannapin, D., Stoeckle, S.D., Gehlen, H., Lübke-Becker, A., Günther, S., Wieler, L.H. & Walther, B. (2019). The Gut Microbiome of Horses: Current Research on Equine Enteral Microbiota and Future Perspectives. *Animal Microbiome*, 1 (14). <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0013-3>
- Longland, A.C. (2012). Nutritional assessment of forage quality. In: Saastamoinen, M., Fradinho, M.J., Santos, A.S., & Miraglia, N. (eds.) *Forages and grazing in horse nutrition*. 65–82
- Mach, N., Ruet, A., Clark, A., Bars-Cortina, D., Ramayo-Caldas, Y., Crisci, E., Pennarun, S., Dhorne-Pollet, S., Foury, A., Moisan, M.-P. & Lansade, L. (2020). Priming for welfare: gut microbiota is associated with equitation conditions and behavior in horse athletes. *Scientific Reports*, 10, 8311. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65444-9>
- Merritt, A.M. & Julliand, V. (2013). 1 - Gastrointestinal physiology. In: Geor, R.J., Harris, P.A., & Coenen, M. (eds.) *Equine Applied and Clinical Nutrition*. W.B. Saunders, 3–32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-3422-0.00001-8>
- Milnovich, G.J., Burrell, P.C., Pollitt, C.C., Klieve, A.V., Blackall, L.L., Ouwerkerk, D., Woodland, E. & Trott, D.J. (2008). Microbial ecology of the equine hindgut during oligofructose-induced laminitis. *The ISME Journal*, 2, 1089–1100. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.67>
- Muhonen, S., Connysson, M., Lindberg, J.E., Julliand, V., Bertilsson, J. & Jansson, A. (2008). Effects of crude protein intake from grass silage-only diets on the equine colon ecosystem after an abrupt feed change. *Journal of Animal Science*, 86 (12), 3465–3472. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0374>
- Muhonen, S., Julliand, V., Lindberg, J.E., Bertilsson, J. & Jansson, A. (2009). Effects on the equine colon ecosystem of grass silage and haylage diets after an abrupt change from hay. *Journal of Animal Science*, 87 (7), 2291–2298. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1461>
- Müller, C.E. (2012). Equine digestion of diets based on haylage harvested at different plant maturities. *Animal feed science and technology*, 177 (1–2), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.06.002>

- Müller, C.E. (2018). Silage and haylage for horses. *Grass and forage science*, 73 (4), 815–827. <https://doi.org/10.1111/gfs.12387>
- Müller, C.E., von Rosen, D. & Udén, P. (2008). Effect of forage conservation method on microbial flora and fermentation pattern in forage and in equine colon and faeces. *Livestock Science*, 119 (1–3), 116–128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.03.007>
- Salem, S.E., Maddox, T.W., Berg, A., Antczak, P., Ketley, J.M., Williams, N.J. & Archer, D.C. (2018). Variation in faecal microbiota in a group of horses managed at pasture over a 12-month period. *Scientific Reports*, 8, 8510
- Särkijärvi, S., Niemeläinen, O., Sormunen-Cristian, R. & Saastamoinen, M. (2012). Changes in chemical composition of different grass species and -mixtures in equine pasture during grazing season. In: Saastamoinen, M., Fradinho, M.J., Santos, A.S., & Miraglia, N. (eds.) *Forages and grazing in horse nutrition*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 45–48. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-755-4_2
- Shepherd, M.L., Swecker Jr, W.S., Jensen, R.V. & Ponder, M.A. (2012). Characterization of the fecal bacteria communities of forage-fed horses by pyrosequencing of 16S rRNA V4 gene amplicons. *FEMS Microbiology Letters*, 326 (1), 62–68. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02434.x>
- Stewart, H.L., Pitta, D., Indugu, N., Vecchiarelli, B., Hennessy, M.L., Engiles, J.B. & Southwood, L.L. (2020). Changes in the faecal bacterial microbiota during hospitalisation of horses with colic and the effect of different causes of colic. *Equine veterinary journal*, 00, 1–13. <https://doi.org/10.1111/evj.13389>
- Willing, B., Vörös, A., Roos, S., Jones, C., Jansson, A. & Lindberg, J.E. (2009). Changes in faecal bacteria associated with concentrate and forage-only diets fed to horses in training. *Equine veterinary journal*, 41 (9), 908–914. <https://doi.org/10.2746/042516409X447806>
- Zhu, Y., Wang, X., Deng, L., Chen, S., Zhu, C. & Li, J. (2021). Effects of Pasture Grass, Silage, and Hay Diet on Equine Fecal Microbiota. *Animals*, 11 (5), 1330. <https://doi.org/10.3390/ani11051330>