

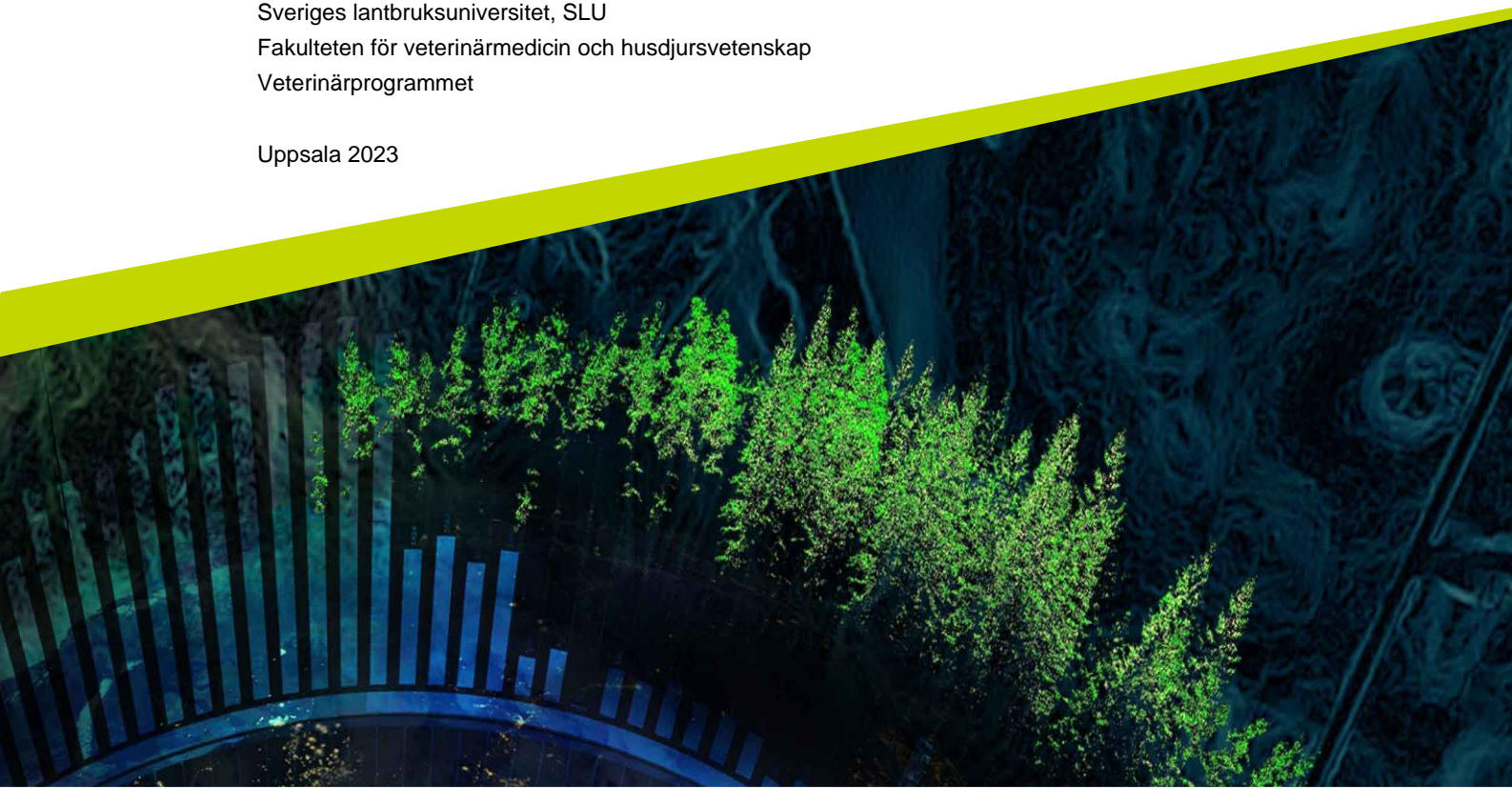


Rödklöverensilage till suggor – effekter på produktion, reproduktionsorgan, grisningsbeteende och grisningsförlopp

Sandra Edvardsson

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2023



Rödklöverensilage till suggor – effekter på produktion, reproduktionsorgan, grisningsbeteende och grisningsförlopp

Red clover silage to sows – effects on the production, reproductive organs, farrowing behaviour and farrowing course

Sandra Edvardsson

Handledare: Magdalena Åkerfeldt, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Bitr. handledare: Emy Vu, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

Examinator: Anna Wallenbeck, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och hälsa

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX1003

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2023

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: Sugga, rödklöverensilage, fytoöstrogener, isoflavoner, grisningsförlopp, grisningsbeteende, produktion, reproduktionsorgan

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Målet med studien var att undersöka effekterna av en rödklöverdiet rik på fytoöstrogener på suggor i smågrisproduktion med avseende på produktion (kullstorlek, antal levande födda kultingar, antal dödfödda kultingar, antal stenfoster och kultingarnas födelsevikt), reproduktionsorgan, grisningsförlopp och grisningsbeteende. Totalt ingick 21 renrasiga yorkshiresuggor i studien och delades med hjälp av matchning med avseende på kullnummer och omgång in i två grupper med 12 suggor i kontrollgruppen och 9 suggor i behandlingsgruppen. Båda grupperna utfodrades delvis med ett kommersiellt suggfoder utan innehåll av fytoöstrogener. Kontrollgruppen utfodrades utöver det med vitklöverensilage (VK) innehållande mycket låga nivåer av fytoöstrogener (0,01 g biochanin A/kg, 0,02 g daidzein/kg, 0,09 g formonentin/kg) och behandlingsgruppen med rödklöverensilage (RK) innehållande höga nivåer av fytoöstrogener (1,38 g biochanin A/kg, 0,11 g daidzein/kg, 8,08 g formonentin/kg, 0,16 g genistein/kg). Suggorna följdes under 2 grisningsomgångar under vilka de filmades i grisningsboxarna. En vecka efter avvänjningen efter sista grisningen slaktades totalt 11 suggor varav 5 från VK och 6 från RK för undersökning och utvärdering av reproduktionsorganen. Inga signifikanta skillnader mellan grupperna i total kullstorlek, antal levande födda kultingar, antal dödfödda kultingar, antal stenfoster, kultingarnas födelsevikter eller andel gyltkultingar respektive galkultingar kunde påvisas. Inte heller observerades några signifikanta skillnader i varken grisningsförlopp (total tid för grisningen, total tid från att första kultingen föds till att den diar, total tid från att sista kultingen föds till att den äter samt längd för efterbördsfasen) eller grisningsbeteende (suggornas tidsbudget samt hur mycket de rörde på sig). Vid obduktion med fokus på reproduktionsorganen kunde inga betydelsefulla skillnader mellan grupperna återfinnas. Givet de nivåer av fytoöstrogener som suggorna i försöket exponerades för kunde inga negativa effekter av utfodring med rödklöverensilage påvisas med avseende på produktion, reproduktionsorgan, grisningsförlopp eller suggornas beteende under grisning. Detta bör dock tolkas med försiktighet, framför allt på grund av att det är få individer i grupperna. Resultaten kan utgöra en värdefull grund för framtida utfodringsrekommendationer för suggor.

Nyckelord: suggor, rödklöverensilage, fytoöstrogener, isoflavoner, grisningsbeteende, grisningsförlopp, produktion, reproduktionsorgan

Abstract

A total of 21 pure bred Yorkshire sows were used to evaluate the effects of a feeding strategy including red clover silage rich in phytoestrogens on their production, reproductive organs, farrowing course and farrowing behaviour. The sows were divided into two groups by matching with respect to litter number and farrowing batch. Both groups were fed a commercial sow feed and additional clover silage (white clover silage for the control group, VK, and red clover silage for the treatment group, RK,). The commercial sow feed contained no phytoestrogens, the white clover silage contained a small amount of phytoestrogens (0,01 g biochanin A/kg, 0,02 g daidzein/kg, 0,09 g formonentin/kg) and the red clover silage a high amount of phytoestrogens (1,38 g biochanin A/kg, 0,11 g daidzein/kg, 8,08 g formonentin/kg, 0,16 g genistein/kg). The groups were studied during two farrowing batches. At the end of the study, which occurred a week after weaning of the piglets in the second farrowing, 11 sows were slaughtered in order to evaluate their reproductive organs. No difference between the groups with respect to litter size, number of piglets born live respectively number of piglets born dead and mummified, litter weight, individual birth weights and the proportion of male and female piglets could be observed between the groups. Neither were there any significant distinctions between the groups regarding farrowing behaviour (time budget of the sows including how often they changed position and location in the pen) and farrowing course (total time for farrowing, total time from the birth of the first piglet until it suckled for the first time, total time from the birth of the last piglet to the first feeding of the sow and the total time for the expulsion of the after birth). At autopsy with focus on the reproductive organs no differences between the sows fed with VK and RK could be seen. Given the levels of phytoestrogens the sows in this study were exposed to no negative effects of feeding sows with red clover could be seen regarding production, reproductive organs, sow behaviour or farrowing course. This should be interpreted with caution, mainly due to the small amount of animals in each group. The results can contribute with valuable insights into the effects of phytoestrogens on sows which could be used for future feeding recommendations.

Keywords: sows, red clover silage, phytoestrogens, isoflavones, farrowing behaviour, farrowing course, production, reproductive organs

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	9
Figurförteckning	10
1. Inledning	11
1.1 Syfte	12
1.1.1 Frågeställning	12
1.1.2 Hypotes	12
1.1.3 Målsättning	12
2. Litteraturoversikt	13
2.1 Utfodring av grisar	13
2.2 Rödklöver i vallen	14
2.3 Phytoöstrogener i rödklöver	14
2.4 Metabolism av phytoöstrogener	15
2.5 Phytoöstrogeners verkningsmekanismer	16
2.6 Phytoöstrogeners kända effekter hos idisslare	16
2.7 Phytoöstrogeners kända effekter hos suggor	18
2.7.1 Effekter på suggans antioxidativa status	18
2.7.2 Effekter på foster och kultingar	19
2.7.3. Effekter på reproduktionsorgan	20
3. Material och Metod	22
3.1 Litteratursökning	22
3.2 Utfodringsstudie	22
3.3 Observationer och etogram	24
3.4 Produktionsdata	27
3.5 Obduktion	28
3.6 Databearbetning och statistiska analyser	28
4. Resultat	30
4.1 Saknad data	30
4.2 Grisningsförlopp	31
4.3 Grisningsbeteende	32
4.4 Reproduktionsorgan	34
4.5 Produktionsdata	36
5. Diskussion	39
5.1 Produktion	39
5.2 Grisningsbeteende och grisningsförlopp	40
5.3 Reproduktionsorgan	43
5.4 Felkällor	44
5.5 Vidare forskning inom området	45

6. Slutsats	46
Referenser.....	47
Populärvetenskaplig sammanfattning	52
Tack	54
Bilaga 1.....	55
Bilaga 2.....	56
Bilaga 3.....	57
Bilaga 4.....	58

Tabellförteckning

Tabell 1. Redogörelse av sökprocessen för litteraturstudien.	22
Tabell 2. Information om suggor i projektet.	23
Tabell 3. Etogram för beteenden och händelser under grisning.	26
Tabell 4. Etogram för beteenden och händelser som användes vid observation av grisningsförloppet.	27
Tabell 5. Tabell över medeltider samt standardavvikelser relaterade till grisningsförloppet samt P-värden från Wilcoxon test. Tiden är angiven i minuter.	31
Tabell 6. Tabell över medelvärden samt standardavvikelser relaterade till livmödrar samt äggstockar för suggor i behandlingsgruppen respektive kontrollgruppen.	35
Tabell 7. Datum för brunst, datum för slakt samt bedömt cykelstadium vid slakt för suggorna som slaktades i slutet av projektet.	36
Tabell 8. Totalt antal födda (kullstorlek), levande födda och dödfödda samt kullens totala vikt och medelvikt per född gris för respektive grisningstillfälle för suggor med behandling RK och VK. Korrigerade medelvärden (least square means) inklusive medelfel (standard error) och P-värde.	37
Tabell 9. Exempel på hur rådata för grisningsförloppet sammanställdes efter tidsangivelserna som anges vid registreringarna i BORIS. Värdena är angivna i minuter.	56

Figurförteckning

Figur 1. Biochanin A demetyleras till genistein som vidare metaboliseras till p-etylfenol. Formononetin demetyleras till daidzein som vidaremetaboliseras till equol (Illustration av Sandra Edvardsson efter Lundh (1995)).....	15
Figur 2. Schematisk bild över två reproduktionscyklar som suggorna genomgår i projektet.	23
Figur 3. Vy från videokamerorna ovanför grisningsboxarna.	25
Figur 4. Suggornas tidsbudget presenterad som procentsatser som tillsammans blir 100 % vilket motsvarar hela den tid som suggorna observerades (från att suggan lägger sig på sidan innan första kultingen föds till att hon står upp och äter efter att sista kultingen fötts).	32
Figur 5. Suggornas genomsnittliga tidsbudget för lokalisation i boxen presenterad som procentsatser som tillsammans blir 100 % vilket motsvarar hela den tid som suggorna observerades (från att suggan lägger sig på sidan en sista gång innan första kultingen föds till att hon står upp och äter efter att sista kultingen fötts).	33
Figur 6. Stapeldiagram över antalet positions- respektive lokaliseringsförändringar som suggorna i de olika grupperna genomför i boxen under grisningen.	34
Figur 7. Lådagram över totala antalet kultingar, antalet levande födda kultingar, antalet dödfödda kultingar samt antalet i stenfoster i kullarna från suggor som utfodrats med rödklöverensilage respektive vitklöverensilage. Diagrammet visar spridningen av antalet kultingar för alla suggor i respektive grupp från största till minsta värdena med första kvartilen, medianen samt tredje kvartilen. X representerar medelvärdet.	37
Figur 8. Lådagram över samtliga kultingars födelsevikter samt födelsevikterna fördelade i grupper om gyltor och galtar för kultingar efter suggor som utfodrats med rödklöverensilage respektive vitklöverensilage. Diagrammet visar spridningen av födelsevikterna från minsta till största värdena med första kvartilen, medianen samt tredje kvartilen. X representerar medelvärdet.....	38
Figur 9. Exempel på hur beteenderegistreringar samt registreringar för grisningsförloppet noteras i programmet BORIS.	55
Figur 10. Exempel på hur kullblanketter som fylls i av personal på Lövsta Forskningscentrum ser ut.	57
Figur 11. Obduktionsprotokoll som användes vid utvärdering av reproduktionsorganen efter slakt.	58

1. Inledning

I dagsläget finns det en ständigt växande marknad för ekologisk grisproduktion, men omställningen från en konventionell produktion till en ekologisk kommer med både krav och utmaningar (Löfquist 2022). Ett krav för att få kalla sin gård ekologisk enligt svensk standard är att minst 20 % av det ekologiska foder som ges till grisarna ska produceras på den egna gården, alternativt på en närbelägen ekologisk gård (Svensson *et al.* 2013). För att producera EU-ekologiska grisar krävs det att man producerar 30 % av fodret på egen gård eller i samarbete med en gård i samma region (Löfquist 2022). För att producera KRAV-grisar är samma siffra 50 % (KRAV ekonomisk förening 2022). Ytterligare ett krav för ekologiska grisar är att de ska ha tillgång till grovfoder, exempelvis i form av ensilage eller hö (Löfquist 2022). På en griskgård går det åt mycket spannmål men för att hålla nere ogrästrycket och bibehålla en bördig jord är det viktigt med en varierad växtföljd (Löfquist 2022). För ekologiska gårdar då handelsgödsel är förbjudet är baljväxter en viktig del i växtföljden eftersom de med hjälp av sin kvävefixerande förmåga binder kväve till marken och bidrar på så vis med växtnäring till odlingsystemet vilket är eftersträvänt (Ögren 2003). Rödklöver (*Trifolium pratense*) är en grön med hög kvävefixerande förmåga (Trněný *et al.* 2019) och lämpar sig till skillnad från t.ex. vitklöver (*Trifolium repens*) bättre till ensilage då den är mer högväxt. Däremot innehåller många sorter av rödklöver höga halter fytoöstrogener, vilket definieras som substanser med liknande kemisk struktur och effekt som hormonet östrogen (Ososki & Kennelly 2003). Fodergivor med höga halter av fytoöstrogener kan påverka idisslars reproduktion negativt (Wyse *et al.* 2022). Det finns en oro att fytoöstrogener även kan störa reproduktion och fertilitet hos grisar och av den anledningen rekommenderar man idag att undvika att utfodra saggisar med just rödklöver (Svensson *et al.* 2013; Jordbruksverket 2021; Löfquist 2022). Trots ovan nämnda statliga rekommendationer saknas forskning som utreder i vilken omfattning fytoöstrogener påverkar saggisarnas reproduktion och fertilitet.

1.1 Syfte

Syftet med studien var att undersöka huruvida en fodergiva med en hög andel rödklöver, och därmed även fytoöstrogener, påverkar suggor i smågrisproduktionen med avseende på produktion, reproduktionsorganen, grisningsbeteende samt grisningsförlopp. Produktionsvariablerna som undersökts är kullstorlek, antal levande födda respektive dödfödda smågrisar och stenfoster, kullvikt, smågrisarnas individuella födelsevikter samt deras könsfördelning.

1.1.1 Frågeställning

Specifika frågeställningar som tas upp i arbetet innefattar följande:

- Förekommer det någon skillnad i produktion (kullstorlek, antalet levande födda smågrisar, antalet dödfödda smågrisar och stenfoster, total kullvikt, smågrisarnas individuella födelsevikter samt könsfördelning) beroende på om suggan utfodrats med rödklöverensilage eller vitklöverensilage?
- Förekommer några makroskopiska skillnader på suggornas reproduktionsorgan beroende på om de utfodras med rödklöverensilage eller vitklöverensilage?
- Hur påverkas grisningsförloppets intensitet och längd beroende på om suggan utfodras med rödklöverensilage eller vitklöverensilage?
- Hur påverkas suggans beteende under grisningen beroende på om hon utfodras med rödklöverensilage eller vitklöverensilage?

1.1.2 Hypotes

Hypotesen innan utförd studie var att utfodring med rödklöverensilage och höga halter av fytoöstrogener påverkar, men ej signifikant negativt, suggornas produktion, reproduktionsorgan samt grisningsbeteende och grisningsförlopp. Denna hypotes är förenlig med hypotesen att man kan inkludera rödklöver i utfodringen till suggor utan att det försämrar ovan nämnda faktorer.

1.1.3 Målsättning

Målsättningen är att utifrån beskrivna frågeställningar bidra med nödvändig information för att utforma utfodringsrekommendationer med avseende på rödklöverinblandning i grovfoder till suggor.

2. Litteraturöversikt

2.1 Utfodring av grisar

Grisar är omnivorer vilket innebär att de kan livnära sig på både växtbaserade och animaliebaserade fodermedel (Sjaastad *et al.* 2016). Grisarnas viktigaste energikälla utgörs av stärkelse som finns i spannmål, exempelvis korn, vete, råg, havre, majs och rågvete med flera (Åkerfeldt & Wivstad 2022). De olika typerna av spannmål har olika egenskaper vilket gör dem mer och mindre lämpliga för olika typer av grisproduktion. Exempelvis är suggor bättre och mer effektiva på att tillgodogöra sig fiberrika fodermedel jämfört med växande smågrisar (Göransson 2010). En annan viktig del i utfodringen av grisar är proteinfoder vilket kan utgöras av ärtor, soja, åkerböna, lupiner och biprodukter från industrin (exempelvis drank, vassle och potatisprotein) (Åkerfeldt & Wivstad 2022). Vanligen behöver man också tillsätta vitaminer och mineraler för att tillgodose grisens dagliga behov av exempelvis spårämnen, fosfor och kalciumkarbonat med flera. I Europeiska unionens lagstiftning om ekologisk produktion framgår det dessutom att alla ekologiska grisar ska ha daglig tillgång till grovfoder (Europeiska kommissionens förordning (EG) nr 886/2008 2008). I svensk ekologisk produktion är det vanligt att grovfodret utgörs av vallfoder, bete och halm (Svensson *et al.* 2013).

Utfodring med ensilage har potential att öka grisarnas välfärd (Presto *et al.* 2013; Presto Åkerfeldt *et al.* 2018). T.ex. har studier visat att grisar som utfodrats med ensilage i kombination med halm var mer aktiva och uppvisade ett större fodersöksbeteende jämfört med grisar som utfodrades med pellets i kombination med halm (Presto *et al.* 2013). Dessutom hade grisarna färre sår samt mildare reaktioner vid sociala interaktioner med andra grisar i gruppen som utfodrades med ensilage. På samma sätt fann Beattie *et al.* (2000) att grisar med mindre möjligheter till fodersöksbeteende och utforskande beteende var mer benägna att rikta om sitt beteende mot andra grisar och inredningen och att berikning gav grisarna bättre möjligheter att utföra t.ex. födosök, bökning och utforskande beteenden vilket medförde en minskad andel aggressivitet.

2.2 Rödklöver i vallen

En vanligt förekommande växt i vallodling är rödklöver (*Trifolium pratense*), som används dels på grund av dess tålighet mot torka samt dess höga proteininnehåll i bladen (Weidow 2018). Precis som majoriteten av baljväxterna har rödklöver förmågan till biologisk kvävefixation, vilket innebär att plantan kan fixera luftens kväve och på så vis bidra med näring till jorden (Trněný *et al.* 2019). Rödklövers egenskap att bidra med näring till jorden gör den till en värdefull gröda, speciellt inom det ekologiska lantbruket där det inte är tillåtet att kvävegödsla med handelsgödsel (Mustonen *et al.* 2014).

2.3 Fytoöstrogener i rödklöver

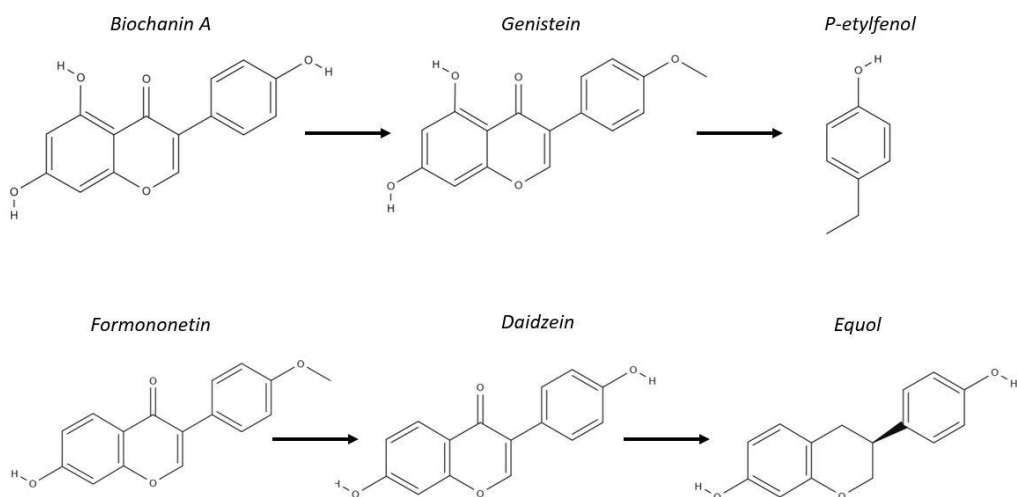
Många rödklöverarter är rika på fytoöstrogener (Mustonen *et al.* 2014). Fytoöstrogener är en grupp föreningar som förekommer i växter och som funktionellt och strukturellt liknar däggjurens normala östrogena hormon (Ososki & Kennelly 2003). Föreningarna förekommer i en stor andel växter varav några välstuderade och med konstaterat höga halter av fytoöstrogener är soja (*Glycine max* (L.) Merr. *Fabaceae*), läkesilverax (*Actaea racemosa*) och rödklöver (*Trifolium pratense*, L. *Fabaceae*). Halten fytoöstrogener i rödklövern varierar med plantornas botaniska ålder och utvecklingsstadium (Höjer *et al.* 2013). I studier har man observerat högre halter fytoöstrogener i plantan vid en tidig skörd (Tsao *et al.* 2006; Höjer *et al.* 2013). Mängden fytoöstrogener varierar mellan plantans olika delar där bladen innehåller de högsta halterna följt av stammen och bladstjälkarna (Tsao *et al.* 2006). Lägst uppmätta innehåll har man funnit i fullt utblommade rödklöverblommor (Sivesind & Seguin 2005). I en studie genomförd vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) har man även genom att jämföra olika sorter av rödklöver konstaterat en viss variation i fytoöstroginnehållet (Höjer *et al.* 2013).

Det finns olika klasser och subgrupper av fytoöstrogener varav den mest välkända och välstuderade gruppen är isoflavoner (Ososki & Kennelly 2003). I gruppen isoflavoner finns flera olika individuella fytoöstrogener vars biologiska aktivitet varierar beroende på strukturella skillnader (Ososki & Kennelly 2003). I plantorna förekommer isoflavonerna oftast i form av glykosider vilka är relativt stabila och biologiskt inaktiva (Tsao *et al.* 2006). Vid vävnadsskada i plantorna kan hydrolys ske vilket ger upphov till de mer biologiskt aktiva aglykonerna, likaså kan hydrolys ske i däggjurens magtarmkanal efter intag (Toebes *et al.* 2005). Tsao *et al.* (2006) jämförde mängden och vilken typ av isoflavoner som dominerade i rödklöver och dess olika plantdelar och fann att innehållet i bladen dominerades av isoflavonerna biochanin A och formomentin. I stammen, bladstjälkarna och blommorna dominerade formomentin. Två andra naturligt förekommande isoflavoner med

rapporterad östrogen aktivitet är aglykonerna daidzein och genistein (Ososki & Kennelly 2003).

2.4 Metabolism av fitoöstrogener

Isoflavonerna, framförallt glykosider, behöver metaboliseras i magtarmkanalen för att kunna tas upp till blodcirkulationen via passiv absorption, detta sker genom att bakterier i magtarmkanalen producerar enzymet β -glykosidas som hydrolyserar glykosiderna till aglykoner (Grgic *et al.* 2021). Vidare metabolism sker både i magtarmkanalen samt i levern. Biochanin A metaboliseras vidare till genistein med hjälp av det intestinala mikrobiomet hos både enkelmagade djur samt idisslare, men ytterligare metabolism varierar mellan olika djurslag. Hos idisslare metaboliseras genistein vidare till p-etylfenol (Bešlo *et al.* 2022). På liknande sätt metaboliseras formononetin vidare till daidzein som därefter kan metaboliseras vidare till equol vilket är en mer aktiv östrogen metabolit (Grgic *et al.* 2021). Kapaciteten att bilda equol varierar mellan djurslag, idisslare har ett mikrobiom som främjar bildandet av equol (Lundh *et al.* 1990) medan grisar har en begränsad möjlighet på grund av individuella skillnader och avsaknad av specifika bakterier som krävs för bildandet av metaboliten (Gu *et al.* 2006). Enligt Grgic *et al.* (2021) kan ålder påverka förmågan att bilda equol, främst på grund av att mikrobiomet ännu ej är fullt utvecklat hos yngre grisar.



Figur 1. Biochanin A demetyleras till genistein som vidare metaboliseras till p-etylfenol. Formononetin demetyleras till daidzein som vidaremetaboliseras till equol (Illustration av Sandra Edvardsson efter Lundh [1995]).

Efter att isoflavonerna absorberats samt metaboliserats distribueras de till olika vävnader och kroppsvätskor (Grgic *et al.* 2021). I en studie genomförd av Urpi-

Sarda *et al.* (2008) studerades distributionen av isoflavoner hos tackor och författarna fann signifikant höga nivåer daidzein och equol i njurarna. Förhöjda nivåer av daidzein och equol uppmättes även i bland annat lever, äggstockar, livmoder samt juvervävnad (Urpi-Sarda *et al.* 2008). Det finns studier genomförda på råttor där författarna studerat distributionen av daidzein i placenta och fostrets lever som visar att placentan innehöll en tiondel och fostrets lever en trettiondedel av nivåerna som fanns i moderns lever (Degen *et al.* 2002). Resultat från samma studie visar även att levern är effektiv på att eliminera daidzein ur blodcirkulationen. Levern eliminerar fytoöstrogenerna genom att konjugera dem till sulfat samt glukuronsyra som sedan exkretteras via urinen (Grgic *et al.* 2021). Okonjugerade former av fytoöstrogen utsöndras via träck (Wyse *et al.* 2022).

2.5 Fytoöstrogens verkningsmekanismer

Fytoöstrogen har ett brett spektrum av möjliga effekter, dels på grund av dess förmåga att verka som både östrogena agonister och antagonister (Brzezinski & Debi 1999) och dels på grund av att östrogen normalt påverkar många olika system i kroppen (Ososki & Kennelly 2003). Fytoöstrogen kan binda till och påverka två olika östrogenreceptorer, α -ER och β -ER. I kombination med att receptorer har olika vävnadsdistribution samt att fytoöstrogenerna har olika affinitet för de olika receptorer så ses en stor variation i isoflavonernas effekter. En agonist till östrogen verkar genom att hämma det endogena östrogenet och på så vis främja östrogenets normala effekter medan en antagonist fungerar genom att blockera eller förändra östrogenreceptorerna vilket förhindrar att endogent östrogen binder in och utövar sin effekt (Brzezinski & Debi 1999). Fytoöstrogen kan även klassificeras som selektiva modulatorer till östrogenreceptorerna vilket innebär att de kan agera som antingen agonist eller antagonist beroende på typ av vävnad, typ av östrogenreceptor samt koncentrationen av det endogena östrogenet som cirkulerar i kroppen. Det finns även studier som tyder på att det finns ytterligare faktorer som kan påverka den effekt som fytoöstrogenerna har, exempelvis kroppens egna individuella metabolism, administrationväg, dos samt samtida intag av andra läkemedel (Ososki & Kennelly 2003).

2.6 Fytoöstrogens kända effekter hos idisslare

Studier har visat att det finns både positiva och negativa effekter hos idisslare orsakade av utfodring med en diet bestående av höga nivåer av fytoöstrogen (Grgic *et al.* 2021).

Hos nötkreatur har man observerat att isoflavoner kan påverka djurets antioxidativa kapacitet samt immunsystemet (Wyse *et al.* 2022). Zhao *et al.* (2017) observerade bland annat att isoflavonen daidzein signifikant ökade halterna av immunoglobulinerna A, G och M i serum hos kalvar. De fann även att daidzein hade förmågan att stimulera produktion av lymfocyter. Genistein har också visat sig kunna påverka immunsystemet genom att inhibera replikation och infektion av virala sjukdomar (Akula *et al.* 2002; Lecot *et al.* 2005). Det finns dock en viss variation i resultat vad gäller isoflavonernas effekter på immunsystemet vilket kan tänkas beror på undersökningspopulationens ras och ålder (Wyse *et al.* 2022).

Resultatet från studien av Zhao *et al.* (2017) visade också att kalvar som fått supplement med daidzein uppvisade en högre nivå av tillväxthormon samt fick en mikrobiomsammansättning vilket både förbättrade smältbarheten av protein samt ökade den genomsnittliga dagliga tillväxten. Liknande effekter har även setts på får. I en studie genomförd av Pace *et al.* (2006) utfodrades lamm med grävklöver (*Trifolium subterraneum*) som har ett högt innehåll av genistein och jämfördes med lamm som utfodrades med italienskt rajgräs (*Lolium multiflorum*) vilket har ett lågt eller inget innehåll av genistein. Lamm som utfodrades med höga halter genistein hade en högre genomsnittlig daglig tillväxt samt högre slaktkroppvikt jämfört med kontrollgruppen som fick rajgräs (Pace *et al.* 2006). Precis som för effekter på immunsystemet så finns det inga helt eniga resultat vad gäller fytoöstrogenernas påverkan på tillväxt och metabolism som stämmer för samtliga raser, djurslag och åldrar (Wyse *et al.* 2022).

Fytoöstrogenernas potentiella påverkan på idisslars reproduktion uppmärksammades för första gången i Australien år 1940 då man såg att tackor som utfodrats med grävklöver (*Trifolium subterraneum*) började uppvisa tecken på störningar i reproduktionen (Bennetts *et al.* 1946). I vad man kom att kalla "Clover disease" ingick tre olika manifestationer av sjukdomen vilka var infertilitet till följd av misslyckad befruktning, maternell dystoki vilket gav upphov till många dödfödda fullgångna lamm samt livmoderframfall. Hur stora och vilka effekter man ser på reproduktionen efter intag av isoflavoner beror på flera faktorer, exempelvis djurslag, ålder, exponering (duration, tidpunkt, mängd) samt administrationsväg (Wyse *et al.* 2022).

Nötkreatur verkar vara mindre känsliga för effekterna av fytoöstrogener jämfört med får (Wyse *et al.* 2022). Det finns flera studier som studerat fytoöstrogenernas effekter på reproduktionen hos kor och kvigor. Tillfällig infertilitet i kombination med tecken på östrogenpåverkan, exempelvis tillväxt av juver, svullnad av vulva, flytningar samt förstorad livmoder och nymfomani har observerats (Omede *et al.* 2009). Andra effekter som har uppmärksammats är cystiska förändringar på ägg-

stockarna, vaginalprolaps samt förlust av embryon (Wyse *et al.* 2022). Tackor uppvisar liknande reproduktionsstörningar som kor och kvigor efter intag av höga halter av fytoöstrogener men till skillnad från kor och kvigor kan tackorna drabbas av permanent infertilitet på grund av förändringar i cervix (Adams 1995). Denna kan även förekomma utan att de uppvisar några andra symptom. Utöver infertilitet har man också observerat förändringar i form av endometriter inklusive pyometra, livmoderprolaps, livmoderödem, minskad ovulationshastighet, äggstocks- och endometriecystor samt ett ökat antal folliklar, dock med avsaknad av antrum vilket leder till att de tillbakabildas (Wyse *et al.* 2022).

Det finns väldigt lite forskning som utreder potentiella effekter som fytoöstrogener har på tjurar och baggar (Wyse *et al.* 2022). Positiva effekter som observerats hos ungtjurar i form av större skrotal omkrets och en högre spermiekoncentration (Miller 2015) samt förbättrad spermakvalitet (Runyan *et al.* 2018). Negativa effekter innefattar uppvisande av parningsbeteende hos stutar samt utveckling av mjölkkörtlar (Wyse *et al.* 2022). Baggar verkar likt tackor vara mer känsliga för effekter av fytoöstrogener och i studier har förstörade spenar, mjölkproduktion samt förstoring av bulbouretralkörtlarna uppmärksammats (Wyse *et al.* 2022). Utöver det har man dessutom noterat en nedsatt funktion hos baggarnas spermier, bland annat i form av nedsatt motilitet, efter exponering av isoflavonen equol (Pool *et al.* 2021).

2.7 Fytoöstrogeners kända effekter hos suggor

2.7.1 Effekter på suggans antioxidativa status

Det finns få studier som utrett isoflavoners effekter på suggor och deras reproduktion. Under dräktighet och laktation krävs mycket energi vilket medför att suggorna ofta hamnar i ett katabolt stadie med hög produktion av fria syreradikaler (Fan *et al.* 2015). Vid produktion av fria syreradikaler induceras ett tillstånd med oxidativ stress vilket kan medföra minskad mjölkproduktion samt en sämre reproduktiv förmåga (Kim *et al.* 2013), bland annat i form av högre andel tidiga aborter, fler dödfödda kultingar och små foster (Xie *et al.* 2022). Därav är det viktigt att tillgodose suggans behov av både näringsrikt foder samt antioxidanter för att upprätthålla en god reproduktion och produktion (Fan *et al.* 2015). Hu *et al.* genomförde 2015 en studie för att utreda om tillskott av isoflavonen glycitein som förekommer naturligt i soja till dräktiga suggor påverkade deras antioxidativa status samt reproduktiva förmåga. 227 suggor delades in i fyra grupper varav en var kontrollgrupp och övriga supplementerades med 3 olika doser av glycitein (15, 30 respektive 45 mg/kg) från dag 85 i dräktigheten. Resultaten visade att tillförsel av glycitein under senare delen av dräktigheten samt under laktationen ökade

suggornas antioxidativa förmåga genom att öka nivåerna av superoxiddismutas, katalas samt glutathionperoxidase i blodet vilka är antioxidativa enzym som minskar antalet fria syreradikaler. Även den totala antioxidantkapaciteten var högre hos suggor som supplementerats med isoflavonen.

Li *et al.* (2021) tittade istället på daidzein och fann likt Hu *et al.* (2015) att tillskott av isoflavonen gav högre nivåer av superoxiddismutas och glutathionperoxidase samt högre total antioxidantkapacitet jämfört med kontrollgruppen. Suggorna fick tillskottet under hela dräktigheten. Fermenterade sojabönor innehåller en högre andel av aglykonerna daidzein och genistein jämfört med icke-fermenterade sojabönor och vid inblandning av högre andel fermenterade sojabönor i fodret till suggor har Luo *et al.* (2021) i enlighet med ovan nämnda resultat observerat en högre koncentration av superoxiddismutas samt glutathionperoxidase i blodet. I kombination med detta fick suggorna även lägre nivåer av malondialdehyd, kortisol och 8-isoprostaglandin F2 α vilka är kända markörer för oxidativ stress (Luo *et al.* 2021). Xie *et al.* (2022) fann också att suggor som fått daidzein-tillskott fick en signifikant högre aktivitet av den totala antioxidativa kapaciteten samt glutathionperoxidase. Detta i kombination med en signifikant lägre koncentration av malondialdehyd. Däremot sågs inga skillnader i koncentrationen av superoxiddismutas. Den senaste studien som undersökt isoflavoners effekt på suggors antioxidativa egenskaper genomfördes av Li *et al.* 2022 i vilken suggor supplementerades med olika mycket sojabaserade isoflavoner (10, 20 respektive 40 mg/kg). Studien visade att nivåerna av superoxiddismutas i serum och den antioxidativa kapaciteten ökade linjärt samt att malondialdehyd i serum minskade linjärt med en ökad mängd tillförda isoflavoner.

Därtill fann man att suggornas foderintag ökade linjärt och att östrusintervallet minskade linjärt med en ökad dos av isoflavoner (Li *et al.* 2022). Hu *et al.* (2015) fann däremot inga skillnader i foderintag mellan kontrollgruppen och gruppen som supplementerades med isoflavonen glycitein.

2.7.2 Effekter på foster och kulingar

Enligt Li *et al.* (2021) ökade antalet födda kulingar och antalet levande födda kulingar signifikant när suggorna fått supplement med daidzein. Dessutom minskade den totala tiden för utdrivningsfasen. Det var dock inga skillnader i kulingarnas individuella födelsevikter. I samma projekt analyserades hormonerna östrogen och progesteron i serum vilka på dag 35 i dräktigheten var högre i behandlingsgruppen jämfört med kontrollgruppen (Li *et al.* 2021). Li *et al.* (2022) fann i motsats till Li *et al.* (2021) inga skillnader i antalet kulingar eller antalet levande födda kulingar. Ren *et al.* (2001) studerade kulingars födelsevikt efter att suggan fått daidzein i sen dräktighet. Efter tillskott med 8 mg daidzein per kilo foder fick

kultingar av hanligt kön en signifikant högre födelsevikt jämfört med kontrollgruppen. Detta sågs inte hos kultingar av honligt kön.

Rehfeldt *et al.* publicerade 2007 en motsvarande studie där hälften av suggorna supplementerades med 1 mg/kg daidzein. Till skillnad från Li *et al.* (2021) och Ren *et al.* (2001) kunde studien inte påvisa några skillnader i vare sig kullstorlek eller kultingarnas födelsevikter (Rehfeldt *et al.* 2007). Farmer *et al.* utvärderade 2016 genisteins effekt på suggornas reproduktion och kultingar och i enlighet med Rehfeldt *et al.* (2007) fann de inga skillnader i kultingarnas födelsevikt beroende på om suggan fått tillskott med genistein eller inte (Farmer *et al.* 2016). Någon skillnad mellan kontrollgrupp och behandlingsgrupperna gällande kullstorlek, antal levande födda eller födelsevikten på kultingarna fanns inte heller i studien genomförd av Luo *et al.* (2021). Däremot vägde kultingarna från suggorna som utfodrades med högre andel fermenterad soja, och därmed högre halt av aglykonerna daidzein och genistein, mer än övriga grupper vid 14 dagars ålder. Hu *et al.* (2015), som supplementerade behandlingsgruppen med glycitein, såg inte heller några skillnader i kultingarnas födelsevikt mellan grupperna men likt Luo *et al.* (2021) såg man en linjär ökning av kultingarnas kroppsvikt vid avvänjning samt en högre genomsnittlig daglig viktökning med ökande dos av glycitein. Rehfeldt *et al.* (2007) studerade även kultingarnas kropps-komposition och fann en tendens till att kultingar efter suggor i behandlingsgruppen hade en större andel fett jämfört med kontrollgruppen. Däremot sågs inga skillnader på kropps-komposition vid slakt.

2.7.3. Effekter på reproduktionsorgan

Det finns enstaka studier som undersökt isoflavoners effekter på reproduktionsorganen hos suggor. En av dessa är Xie *et al.* (2022) som tillförde daidzein till suggor i behandlingsgruppen. Dessa hade signifikant fler embryon samt en högre vikt på livmodern jämfört med kontrollgruppen. Vid undersökning av äggstockarna fann författarna däremot inga skillnader i vare sig antalet gulkroppar eller äggstocksvikt. Utöver reproduktionsorganen undersöktes även hormoner i blodet. Behandlingsgruppen hade signifikant högre nivåer av både progesteron och östrogen i serum.

Ford *et al.* (2006) undersökte effekter på reproduktionsorganen vid supplementering av isoflavoner med fokus på cervix och livmodern. I studien ingick 34 könsmogna ovarieektomerade gyltor som delades in i sex olika grupper varav en negativ kontrollgrupp som fick tillskott med majsolja, en positiv kontrollgrupp som behandlades med estradiolbenzoat samt 4 behandlingsgrupper som supplementerades med 50, 100, 200 respektive 400 mg/d genistein. Både cervix och livmodern svarade på genistein på liknande sätt som de svarar på endogent östrogen på ett

dosberoende sätt i form av ökad vikt på både livmoder och cervix samt större mängd totalt DNA i vävnaderna jämfört med den negativa kontrollen. Dessutom konstaterades att epitelialcellerna som utlinjerar livmoderlumen samt livmoderkörtlarna var mer avlånga och cylinderformade i behandlingsgrupperna jämfört med de negativa kontrollerna. Däremot var inga förändringar lika distinkta i behandlingsgrupperna som i gruppen som kompletterats med estradiolbenzoat. Författarna menar att resultaten tydligt visar på de östrogena effekter som genistein har på både livmoder och cervix hos grisar.

3. Material och Metod

3.1 Litteratursökning

Litteratursökning genomfördes med hjälp av databaserna Pubmed, Google Scholar samt Web of Science. Sökningen avgränsas till expertgranskade publikationer som finns tillgängliga i sin helhet. Sökorden som användes var huvudsakligen "phytoestrogens", "isoflavones", "sow", "pig/pigs" "farrowing", "behaviour", "reproduction" och "red clover". Resultat från sökningarna presenteras i tabellen nedan. Vidare urval gjordes genom att läsa rubriker samt abstracts för att sälla bort artiklar som ej berör aktuellt ämne. Ytterligare källor hittades genom att studera referenslistor tillhörande artiklar som hittades enligt sökprocess beskriven i tabell 1. Totalt användes 55 referenser.

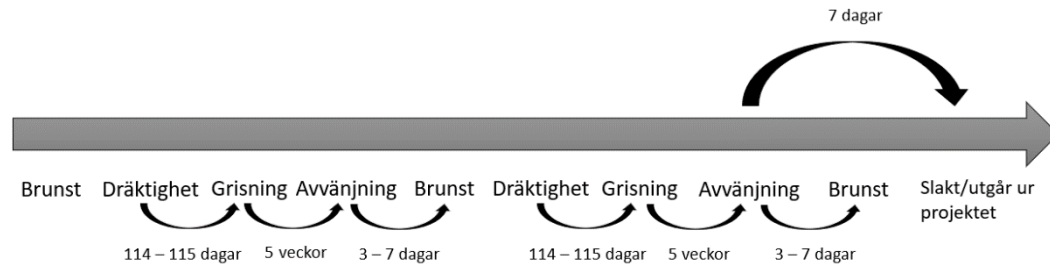
Tabell 1. Redogörelse av sökprocessen för litteraturstudien.

Databas	Söksträng	Antal träffar	Datum för sökning
Pubmed	"Phytoestrogens" "effect" "mechanism"	1561	2022-09-13
Pubmed	"Behaviour" "farrowing" "sow"	65	2022-09-13
Web of Science	"red clover" "phytoestrogens" "feed"	204	2022-09-13
Google Scholar	"red clover" "phytoestrogens" "feed"	3360	2022-09-13
Web of science	"isoflavones" "reproductive tissue" "sow"	9	2022-11-04
Pubmed	"Isoflavones" "sow"	10	2022-11-04
Web of science	"Isoflavones" "sow"	41	2022-11-04
Pubmed	"isoflavones" "sow" "farrowing"	2	2022-11-05
Google Scholar	"Isoflavones" "sow" "farrowing"	569	2022-11-05

3.2 Utfodringsstudie

Studien genomfördes i ett pågående forskningsprojekt (Ökat utnyttjande av vall i foder till grisar, Presto Åkerfeldt, 2022) på SLU, Lövsta Forskningscentrum, utanför Uppsala under perioden december 2021 till oktober 2022. I studien ingick

initialt 23 renrasiga yorkshiresuggor varav elva utfodrades med rödklöverensilage (RK) och tolv med vitklöverensilage (VK), jämnt fördelade i fem olika sagggrupper. Saggorna följdes under två reproduktionsomgångar (figur 2).



Figur 2. Schematisk bild över två reproduktionscyklar som saggorna genomgår i projektet.

Behandlingsgruppen (RK) och kontrollgruppen (VK) matchades avseende kullnummer som varierade mellan två och sex kullar. Två saggor från RK togs ur försöket i ett tidigt skede. Detta till följd av att den ena saggan inte blev dräktig trots upprepade försök med inseminering initialt när studien startade och att en sagg fick benbrott under första dräktigheten och avlivades. Information om projektets saggor redovisas i tabell 2 nedan.

Tabell 2. Information om saggor i projektet.

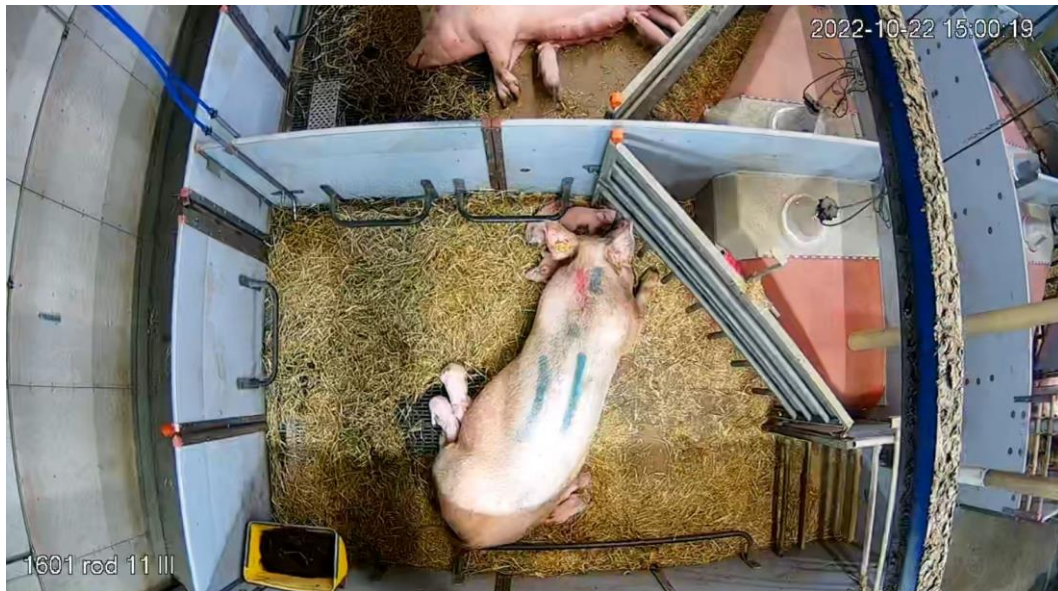
GrisID	LövstaID	Behandlingsgrupp	Kullnummer vid start av försöket	Omgång	Slakt (J/N)
2	29131	VK	4	I	N
3	28613	RK	4	I	J
4	32709	VK	2	I	N
6	32710	VK	1	II	J
7	32707	RK	1	II	N
8	32696	VK	1	II	N
9	32691	RK	1	II	J
10	25391	VK	6	II	J
11	33657	RK	2	III	N
12	33656	VK	2	III	N
13	28615	RK	5	IV	J
14	32159	VK	3	IV	N
15	29007	RK	5	IV	J
16	32160	VK	3	IV	J
17	29004	RK	5	IV	J
18	28610	VK	5	IV	N
19	28616	VK	5	IV	N
20	32162	VK	2	IV	J
21	32157	RK	2	V	N
22	32194	VK	2	V	J
23	32163	RK	2	V	J

Efter avvänjning av smågrisarna fram till en vecka före grisning (totalt 15 veckor) gick suggorna i grupper med ungefär tio individer i lösdrift på djupströbädd i betäckningsavdelningen med brunstkoll och seminering 5–7 dagar efter avvänjning. Seminering skedde med semin enligt Lövsta Forskningscentrums bestämda rutiner. I betäckningsavdelningen handutfodrades varje sugga två gånger om dagen (på morgonen samt efter lunch) med 4,3 kg/dag antingen rödklöverensilage eller vitklöverensilage utöver sin ordinarie giva med foder för dräktiga suggor (Suggfoder Total, Svenska Foder) enligt svenska närings-rekommendationer (Göransson & Lindberg 2011). Dräktighetsundersökning med ultraljud skedde 30 dagar efter seminering vartefter de konstaterat dräktiga suggorna flyttade in till boxar för dräktiga suggor, samma grupp och liknande utformning som i betäckningsavdelningen. En vecka före beräknad grisning flyttades suggorna in i grisningsavdelningen där de sedan gick i individuella boxar tills avvänjningen (totalt 5 veckor i grisningsbox). I grisningsavdelningen utfodrades de med digivningsfoder (Suggfoder Intense 70 PK, Svenska foder) samt 0,5–1 kg av röd- alternativt vitklöverensilage beroende på vilken behandling de tillhörde. Dräktighetsfodret och digivningsfodret innehöll inga fytoöstrogener. Vitklöverensilaget innehöll 0,01 g biochanin A/kg, 0,02 g daidzein/kg samt 0,09 g formononentin/kg och rödklöverensilaget innehöll 1,38 g biochanin A/kg, 0,11 g daidzein/kg, 8,08 g formononentin/kg samt 0,16 g genistein/kg. Efter avvänjning flyttades suggorna tillbaka till lösdriften där de återigen blev brunstiga, inseminerade och fortsatte nästa reproduktionsomgång.

3.3 Observationer och etogram

Suggor filmades under vistelsen i grisningsboxen med hjälp av videokameror placerade i taket mitt ovanför grisningsboxen som filmade rakt ner på suggan och således täckte hela boxens yta förutom smågrishörnan (figur 3). Tidsintervallet som observationerna skulle omfatta bestämdes innan studien startade att pågå från att suggan lade sig ner på sidan innan första smågrisens födelse, till suggans första foderintag efter grisningens slut. För att dokumentera suggornas beteende och grisningsförloppet upprättades etogram som redovisas i tabell 3 och 4. För registrering av både suggans beteende och grisningsförlopp användes programmet BORIS (Behavioural Observation Research Interactive Software, Friard & Gamba 2016). Observationerna som genomfördes skedde dels i form av ögonblicksobservationer var 5:e minut samt i form av kontinuerlig observation under de första 15 minuterna per timme under grisningen. Under den kontinuerliga observationen registrerades alla beteenden som suggan uppvisade samt när hon ändrade position och lokalisation i boxen. Registreringarna för ögonblicksobservationerna innefattade information om det beteende som suggan utförde samt vart i boxen hon befann sig i. Utöver ögonblicksobservationerna och de kontinuerliga observationerna registrerades även

tiderna för samtliga kulingars födelse, första kulingens första digivning efter födsel, när efterbördan avgick samt när suggan intog foder för första gången efter att sista kulingen hade fötts för att få en uppfattning om grisningsförloppet. Exempel på tabell för observationsregistreringar ses i bilaga 1.



Figur 3. Vy från videokamerorna ovanför grisningsboxarna.

Tabell 3. Etogram för beteenden och händelser under grisning.

Observationstyp	Beteende/Händelse	Definition
<i>Ögonblicksobservation</i>		
<i>Position</i>	Ligger på sidan	Suggan ligger på sidan med samtliga fyra ben utsträckta åt samma håll
	Ligger på mage	Suggan ligger på mage med samtliga fyra ben under sig alternativt ligger ej helt på sidan
	Står	Suggan håller sig upprätt och belastar samtliga fyra ben
	Sitter	Suggan har sina bakben och bakdel i marken och står och belastar sina framben
<i>Beteende</i>	Dricker	Suggan dricker vatten från vattennippeln
	Äter	Suggans huvud är i foderträget i över 1 minut
	Utforskande beteende	Suggans nos nuddar och interagerar med strömaterial, golv eller boxinredning
	Urinerings	Suggan står på spalten alt. betonggolvet/liggytan och tömmer urinblåsan
	Defekation	Suggan står på spalten alt. betonggolvet/liggytan och utsöndrar avföring
	Ger di	Suggan ligger ner i lateral position medan minst 1 smågris diar på en spene
	Social kontakt med smågrisarna	Suggan nuddar och interagerar med smågrisarna med nosen
<i>Lokalisation i box</i>	Fodertråg	Suggans huvud är i foderträget
	Liggyta	Majoriteten av suggans kropp är på det ströbeklädda betonggolvet
	Spalt	Majoriteten av suggans kropp är på spaltgolvet
<i>Kontinuerlig observation</i>	Positionsförändring	Suggan ändrar sin position mellan att ligga på sidan, ligga på mage, stå samt sitta
	Lokalisationsförändring	Suggan ändrar sin lokalisation i boxen mellan fodertråg, liggyta och spaltgolv

Tabell 4. Etogram för beteenden och händelser som användes vid observation av grisningsförloppet.

Observationstyp	Beteende/Händelse	Förklaring
<i>Kontinuerlig observation</i>	Observationsstart	Suggan är klar med bobyggnadsbeteendet (aktivt bökar och interagerar med inredning och strömmaterial) och ligger lugnt på sidan inför grisningen
	Grisningens start	Tiden då hela första kultingen är utanför suggan
	Andra kultingen föds	Tiden då hela andra kultingen är utanför suggan
	Tredje kultingen föds	Tiden då hela tredje kultingen är utanför suggan
	Osv.	Osv.
	Tiden för första smågrisen att nå spenen första gången	Tiden från att första kultingen är utanför suggan i sin helhet till att den hittar juvret och börjar dia
	Total tid för utdrivningsfasen	Tiden från att första kultingen är utanför suggan i sin helhet till att sista spädgrisen är utanför suggan i sin helhet
	Total tid för efterbördsfasen	Tiden från att sista kultingen föds till att dess efterföljande efterbörd har kommit ut från suggans livmoder
Suggans första foderintag efter grisning	Tiden från att sista kultingen föds till att suggan står upp och äter ur foderträget i minst 1 minut	

3.4 Produktionsdata

Produktionsdata avseende antalet levande födda smågrisar, antalet dödfödda smågrisar, antalet stenfoster samt födelsevikten och kön på smågrisarna insamlades enligt rutin med hjälp av stallpersonal på Lövsta Forskningscentrum i form av kullblanketter (exempel ses i bilaga 2). Kultingarnas kön anges på kullblanketten där nummer 2 motsvarar honligt kön och nummer 1 hanligt kön.

3.5 Obduktion

Efter påvisad brunst efter andra grisningen, dvs. vid försökets slut, skickades 11 suggor till slakt på Lövsta slakteri. Avvänjning skedde på fredagen och efter att brunst påvisats skedde slakt nästkommande fredag. Suggorna som slaktades valdes i samråd med personal på Lövsta forskningscentrum och matchades mellan behandlingsgrupp och kontrollgrupp med avseende på kullnummer för att få en jämn fördelning. Suggorna obducerades med fokus på reproduktionsorganen (livmoder och äggstockar). Även urinblåsan och närliggande lymfknutor utvärderades. Organen undersöktes enligt protokoll framtaget tillsammans med forskare inom ämnet för reproduktion (se bilaga 3).

3.6 Databearbetning och statistiska analyser

Rådata från videoobservationerna genomförda i BORIS (Friard & Gamba 2016) samt data från obduktionsprotokoll och kullblanketter infördes manuellt och formaterades i Microsoft Office 365 Excell för vidare statistisk bearbetning.

För produktionsdata (variablerna kullstorlek, antal levande födda kultingar, antal dödfödda kultingar, kullens totala vikt samt medelvikt/född kulting) utfördes statistiska analyser med Mixed procedure i SAS® 9.4 (SAS Institute Inc. 2021). I den statistiska modellen ingick behandling (RK, VK), kullnummer (1–7) och grisningstillfälle (1, 2) som fixa faktorer. Suggnummer inom sugg-grupp ingick som slumpmässig effekt. Effekten av sugg-grupp såväl som samspel mellan behandling x grisningstillfälle testades även som fixa faktorer, men exkluderades ur modellen då de inte var signifikanta för någon av de testade variablerna. Resultaten presenteras som korrigerade medelvärden (least square means) och standardfel (standard error) med statistisk signifikansnivå på 5 % ($P < 0,05$). För produktionsvariablerna könsfördelning på kultingarna samt födelsevikt på kultingar fördelade efter kön användes beskrivande statistik i form av medelvärden och standardavvikelser.

För jämförelser och analys av de observationerna som relaterade till grisningsförloppet (tiden från att suggan lägger sig lugnt på sidan tills att första kultingen föds, total tid för utdrivningsfasen, medeltiden mellan två kultingars födelse, tiden från att första kultingen är född till att den hittar juvret och börjar dia, tiden från att sista kultingen föds till att suggan äter samt längden på efterbördsfasen) användes beskrivande statistik (medelvärden och standardavvikelser). Skillnader mellan behandlingar (RK och VK) för dessa variabler analyserades med two-sample Wilcoxon test i R Commander (Fox 2005). P-värden $< 0,05$ bedömdes som signifikanta.

Totalt genomfördes 5123 ögonblicksobservationer (i snitt 165 observationer per sugga och grisning) Dessa sammanställdes i Microsoft Excell för att uppskatta suggornas tidsbudget. Beteenden som observerades var digivning, ligger på sidan, ligger på magen, står, sitter, äter, dricker, utforskande beteende samt social kontakt med kultingarna. Under ögonblicksobservationerna registrerades även suggans lokalisation i boxen för att få en uppfattning om vart suggan i huvudsak befinner sig. Områden i boxen som registrerades var liggyta, spaltgolv samt fodertråg. Beteenden och lokalisationer analyserades och presenterades med beskrivande statistik i form av andelar av den totala tiden som suggorna observerades. Utöver ögonblicksobservationer genomfördes även kontinuerliga observationer under vilka suggans positions- och lokalisationsförändringar registrerades för att få en uppfattning om hur mycket suggan rörde sig i boxen. Totalt analyserades 6585 minuter under de kontinuerliga observationerna (i snitt 212 minuter/sugga och grisning). Även dessa sammanställdes i Microsoft Excell och analyserades och presenterades i form av beskrivande statistik (antal positions- respektive lokalisationsförändringar per 10 minuter).

För att analysera rådata relaterade till suggornas reproduktionsorgan användes beskrivande statistik inkluderande medelvärden och standardavvikelser.

4. Resultat

4.1 Saknad data

En sugga ur VK togs ur försöket i andra reproduktionscykeln på grund av ej dräktighet trots flertalet försök, vilket berodde på dålig semin, ofruktsam galt. En sugga i RK slaktades i andra reproduktionscykeln på grund av att hon aborterade. Hon var dräktig vid dag 30 men inte vid dag 60. Efter det blev hon inte dräktig trots upprepade försök. Resultat från suggornas första grisning ingår fortfarande som en viktig del i resultatet. Anledningen till slakt kommer tas i beaktning i det övergripande doktorandprojektet. Totalt följdes 21 suggor som studerades under första reproduktionscykeln, varav nio i RK och elva i VK. Totalt 19 suggor studerades under både första och andra reproduktionscykeln varav åtta i RK och tio i VK.

På grund av den dammiga miljön i grisningsstallet behövde videokamerorna ovanför boxarna manuellt rengöras inför varje grisning. Detta var inte möjligt inför andra grisningen för suggorna 21, 22 och 23 och därmed kunde ingen datainsamling ske. Tekniska problem med videokamerorna medförde att sugga nummer 11 ej filmades under första grisningen och sugga nummer 14, 15, 18, 19 och 20 ej filmades under andra grisningen. Totalt filmades och analyserades 31 grisningar varav 18 av dessa var filmer på suggor i VK och 13 på suggor i RK. Totalt analyserades suggorna under 6 585 minuter under de kontinuerliga observationer (varav 2995 för RK och 3590 för VK) samt 5124 ögonblicksobservationer (varav 2343 för RK och 2781 för VK).

Information om kulingarnas födelsevikt samt kön från kullblankett tillhörande sugga nummer 8 vid dess andra grisning exkluderas då information om antalet kulingar inte överensstämde med antalet kulingar som föddes enligt video. Enligt kullblankett födde suggan 17 levande födda kulingar, i videon observerades att suggan födde fram 11 kulingar samt tilldelades 6 kulingar från annan okänd sugga.

4.2 Grisningsförlopp

Inga signifikanta skillnader mellan behandlingsgruppen och kontrollgruppen observerades i grisningsförloppet vid jämförande analys av observerade medelvärden med Wilcoxon test. I snitt lade sig rödklöversuggor sig ner på sidan 18,3 minuter innan första kultingen föddes och det tog sedan i snitt 46,0 minuter tills att kultingen diade för första gången. Vitklöversuggorna hann i snitt ligga ner på sidan i 39,4 minuter innan första kultingen kom som sedan började dia 109,5 minuter senare, det förekom dock en stor spridning hos suggorna i VK för dessa tidsangivelser (se tabell 5).

Den totala tiden för utdrivningsfasen var 221,0 minuter för RK och 277,1 minuter för VK och medeltiden mellan två kulingars födelse var för RK 14,5 och för VK 16,0 minuter. Suggorna i RK började i snitt äta 316,4 minuter efter sista kultingen var född, samma siffra för suggorna i VK var 291,3 minuter. Det förekom dock en stor individvariation inom denna parameter. Sugga 3, 5, 12 och 23 hade ingen tydlig avgång av efterbörden inom observationstiden under grisning nummer ett varför tiden för efterbördsfasen inte kunde avgöras och därför inte kan ingå i den statistiska bearbetningen. Medeltiden för den observerade efterbördsfasen för RK var 140,6 min och för VK 70,0 min. Samlad beskrivande statistik för grisningsförloppet samt P-värdena från Wilcoxon test återfinns i tabell 5.

Tabell 5. Tabell över medeltider samt standardavvikelser relaterade till grisningsförloppet samt P-värden från Wilcoxon test. Tiden är angiven i minuter.

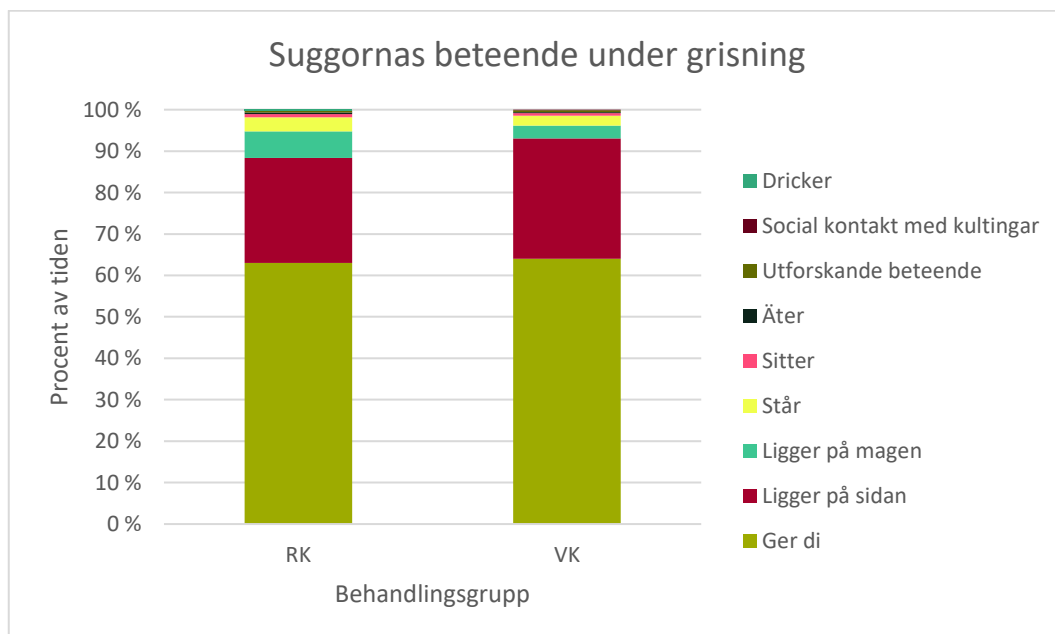
Variabel	Behandlingsgrupp	Kontrollgrupp	P-värden
Tid från att suggan lägger sig på sidan till att första kultingen föds	18.3 ± 18.73	39.4 ± 105.01	0.06
Tid från att första kultingen föds till att den hittar juvret och börjar dia	46.0 ± 32.65	109.5 ± 237.46	0.44
Total tid för utdrivningsfasen	221.0 ± 80.99	277,1 ± 157.46	0.59
Medeltiden mellan två kulingars födelse	14.5 ± 8.60	16.0 ± 7.27	0.53
Tiden från sista kulingens födelse tills att suggan äter	316.4 ± 178.89	291.3 ± 243.51	0.75
Tiden för efterbördsfasen	140.6 ± 94.50	70.0 ± 55.05	0.08

Sugga 16 (VK) och 17 (RK) uppvisade under första grisningen och nummer 16 även under andra grisningen tecken på dystoki med en utdragen grisning vilket krävde intervention av stallpersonal. Flertalet döda kulingar drogs ut manuellt och suggorna drevs upp för foderintag och motion. Av denna anledning kunde ej tidsangivelserna för total tid för utdrivningsfas, medeltid mellan två kulingars födelse,

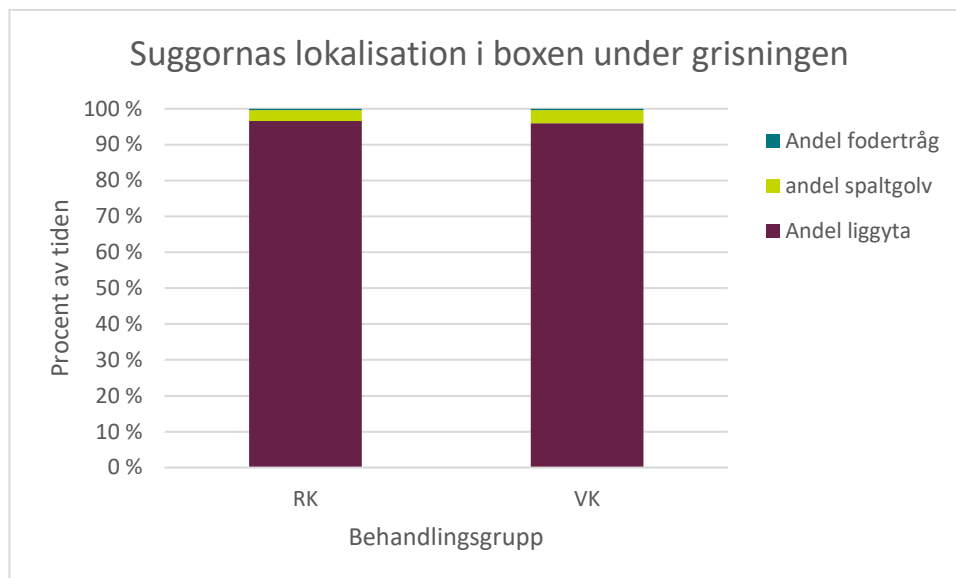
tiden från sista kulingens födelse till att suggan äter samt längden på suggans efterbörd analyseras korrekt och utslöts därför från de statistiska analyserna.

4.3 Grisningsbeteende

Suggor i RK spenderade 87,7 % av observerad tid med att ligga på sidan och under 71,3 % av tiden de låg på sidan diade minst en kuling. Suggor i VK låg på sidan 93,6 % av tiden och under den tid diade minst en kuling under 68,8 % av tiden. I övrigt spenderade suggor RK 6,4 % av tiden liggandes på mage och 3,4 % stående. Motsvarande tid för suggorna i VK var 3,2 % för att ligga på mage och 2,4 % att stå. Beteenden som att sitta, äta, utforska, ha social kontakt med smågrisarna och dricka förekom sparsamt med under 1,0 % av tiden i både RK och VK. Procentfördelningen av suggornas beteende under observationstiden redovisas grafiskt i figur 4. Suggor i RK var 96,6 % av tiden på liggytan/betonggolvet i boxen, 3,1 % av tiden på spaltgolvet och 0,3 % av tiden på liggytan med huvudet i foderträget. Suggor i VK var 96,0 % av tiden på liggytan/betonggolvet, 3,6 % av tiden på spaltgolvet och 0,4 % med huvudet i foderträget. Procentfördelningen av suggornas lokalisation i boxen under observationstiden redovisas grafiskt i figur 5.

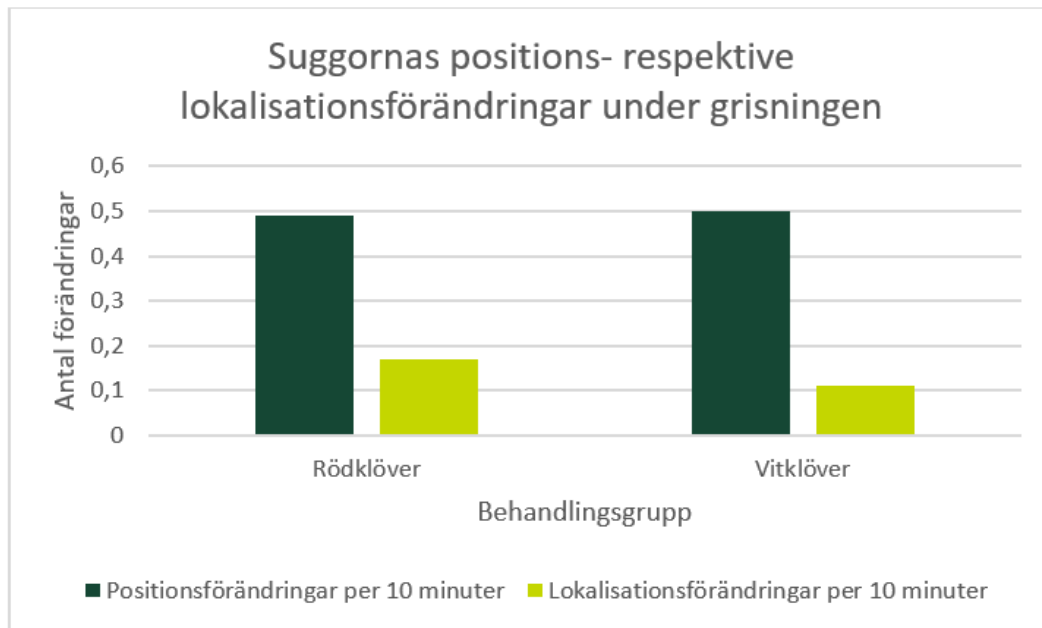


Figur 4. Suggornas tidsbudget presenterad som procentsatser som tillsammans blir 100 % vilket motsvarar hela den tid som suggorna observerades (från att suggan lägger sig på sidan innan första kulingen föds till att hon står upp och äter efter att sista kulingen fötts).



Figur 5. Suggornas genomsnittliga tidsbudget för lokalisation i boxen presenterad som procentsatser som tillsammans blir 100 % vilket motsvarar hela den tid som suggorna observerades (från att suggan lägger sig på sidan en sista gång innan första kultingen föds till att hon står upp och äter efter att sista kultingen fötts).

Totalt bytte suggorna i behandlingsgruppen (RK) position 147 gånger och lokalisation 51 gånger på totalt 2995 minuter (0,49 positions- respektive 0,17 lokalisationsförändringar per 10 minuter). Suggorna i kontrollgruppen (VK) bytte position 181 gånger och lokalisation 39 gånger på totalt 3590 minuter (0,5 positions- respektive 0,11 lokalisationsförändringar per 10 minuter). Generellt för samtliga suggor skedde den övervägande delen av positions- och lokalisationsförändringarna under de tre första timmarna av grisningen. Resultatet redovisas grafiskt i figur 6.



Figur 6. Stapeldiagram över antalet positions- respektive lokaliseringsförändringar som suggorna i de olika grupperna genomför i boxen under grisningen.

4.4 Reproduktionsorgan

Totalt slaktades 11 suggor varav 6 utfodrats med rödklöverensilage och 5 utfodrats med vitklöverensilage. Inga stora skillnader kunde ses med avseende på äggstockstorlek och livmoderstorlek mellan grupperna. En stor variation observerades i livmodervikt inom båda grupperna, medelvärdet samt standardavvikelsen för RK var $809,6 \pm 482,25$ gram respektive $867,4 \pm 260,83$ för VK (tabell 6). För suggor i RK var längden från bifurkationen på höger respektive vänster livmoderhorn i genomsnitt 172,0 och 189,4 centimeter. Diametern vid bifurkationen på höger respektive vänster livmoderhorn var 2,3 och 2,4 cm och diametern 30 cm från bifurkationen på höger respektive vänster livmoderhorn var i snitt 2,4 och 2,5 cm. Motsvarande medelvärden för suggor i VK för livmoderhornens längd var 155,2 respektive 153,9 och för livmoderhornens diameter 2,9 resp. 2,9 samt för diametern 30 cm från bifurkationen 3,1 respektive 3,1 cm. I snitt var äggstocksvikten för höger respektive vänster äggstock 11,1 respektive 11,2 för RK och 12,1 respektive 11,1 g för VK. En sammanställning av ovan beskrivning av reproduktionsorganens storlek redovisas i tabell 6.

Det var inte heller några nämnvärda skillnader i strukturer på äggstockarna mellan grupperna. Åtta av suggorna slaktades 2–5 dagar efter brunst vilket även kunde observeras på äggstockarna i form av flertalet corpus hemorrhagicum (CH). I snitt hade rödklöversuggorna 10,4 CH på vardera äggstock och vitklöversuggorna 13,5

CH per äggstock. Två suggor i VK och en i RK slaktades inte i nära anslutning till brunst vilket konfirmerades med att äggstockarna innehöll flertalet corpus luteum (CL). Rödklöversuggan hade 6 resp. 16 CL på äggstockarna medan vitklöversuggorna hade 19 resp. 12 samt 40 resp. 42 CL. Tre suggor i RK och en sugga i VK hade enstaka små synliga folliklar på vardera äggstock. Två suggor i RK och två suggor i VK hade enstaka tidigare dräktighetsgulkroppar i vardera äggstock och en sugga i RK hade flertalet dräktighetsgulkroppar i varje äggstock.

Tabell 6. Tabell över medelvärden samt standardavvikelse relaterade till livmödrar samt äggstockar för suggor i behandlingsgruppen respektive kontrollgruppen.

Variabel	Behandlingsgrupp	Kontrollgrupp
Livmodervikt från bifurkationen (gram)	809.6 ± 482.25	867.4 ± 260.83
Längd från bifurkationen, höger respektive vänster livmoderhorn (centimeter)	172.0 ± 81.28; 189.4 ± 102.99	155.2 ± 27.68; 152.9 ± 32.76
Diameter vid bifurkationen, höger respektive vänster livmoderhorn (centimeter)	2.3 ± 0.63; 2.4 ± 0.69	2.9 ± 0.65; 2.9 ± 0.65
Diameter 30 cm från bifurkationen, höger respektive vänster livmoderhorn (centimeter)	2.5 ± 0.56; 2.6 ± 0.42	3.1 ± 0.65; 3.1 ± 0.56
Vikt höger respektive vänster äggstock (gram)	11.1 ± 6.11; 11.2 ± 7.58	12.1 ± 9.63; 11.1 ± 7.10

En sugga i behandlingsgruppen (RK) hade vid slakt en lindrig mängd gulgröna ca 0,3 cm i diameter stora urinstenar och en sugga i kontrollgruppen (VK) hade lindrigt med petechiella blödningar i urinblåsans slemhinna. Ytterligare en sugga i behandlingsgruppen uppvisade urinblåsepategori i form av lindrig cystit (måttlig hyperemi mot apex i kombination med lindrig mängd flockor i urinen). I övrigt fanns inga avvikelser på dessa suggors organ som bedömdes som onormala. Två suggor hade onormala strukturer på äggstockarna varav den ena tillhörde VK och hade 1 follikelcysta (28 mm i diameter) på höger äggstock och 2 follikelcystor (18 mm i diameter) på vänster äggstock. Den andra suggan tillhörde RK och hade 4 luteincystor (15–20 mm i diameter) på respektive äggstock. Den senare hade dessutom rikligt med papler och pustler i vestibulum samt måttligt förstörade, lindrigt lobulerade lymfknutor (i mesometriet). Hon bedömdes inte cykla normal och den sammanlagda diagnosen för henne var misstänkt endometrit.

I tabell 7 redovisas datum för brunst, datum för slakt samt det cykelstadium som suggorna bedömdes ha vid slakttillfället baserat på fynd på reproduktionsorganen. Sugga nummer 17 aborterade och gick kvar till nästa slakt utan att kontroll för brunst skedde varför brunstdatum inte kan säkerställas. Bedömningen vid slakt var

att suggan inte cyklade normal. Samtliga suggor där datum för brunst är känt bedömdes cykla normalt samt befinna sig i rätt cykelstadium vid slakt.

Tabell 7. Datum för brunst, datum för slakt samt bedömt cykelstadium vid slakt för suggorna som slaktades i slutet av projektet.

Sugg-ID	Datum för brunst	Datum för slakt	Cykelstadium vid slakt
3	26/7	28/7	Tidig Metöstrus
6	28/6	8/7	Sen diöstrus
9	28/6	8/7	Sen diöstrus
10	9/8	19/8	Diöstrus
13	4/10	7/10	Sen metöstrus
15	4/10	7/10	Tidig metöstrus
16	4/10	7/10	Sen östrus
17	-	7/10	Cyklar ej normalt
20	4/10	7/10	Tidig metöstrus
22	18/10	22/10	Metöstrus
23	18/10	22/10	Tidig metöstrus

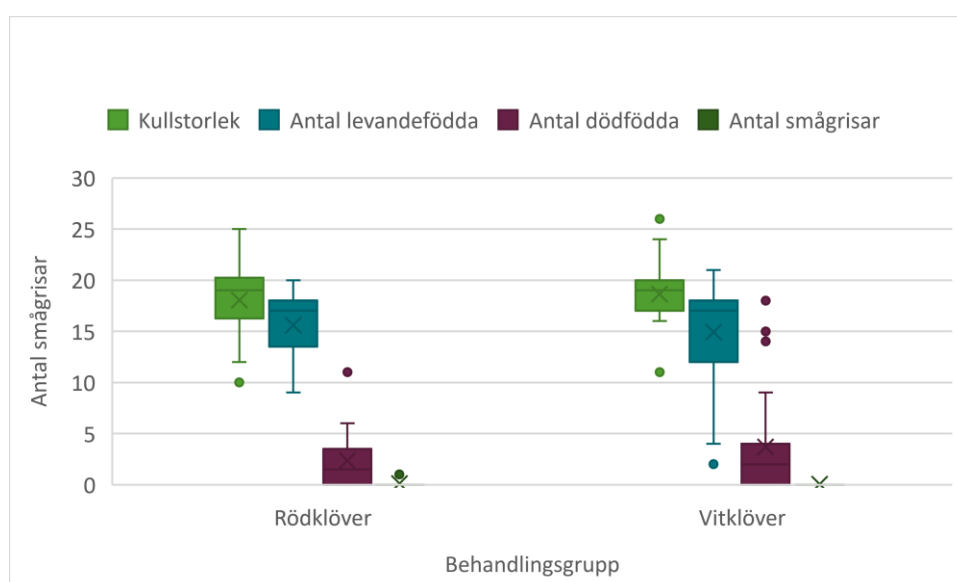
Graden av ödem i livmodern varierade mellan lindrigt till måttligt och graden av hyperemi i livmodern mellan lindrigt och måttligt/kraftigt vilket överensstämde med vart suggorna var i östruscykeln. En sugga i behandlingsgruppen hade 0,5 dl klar halmgul vätska i livmodern. Trots att vätskan var luktfri kunde inte postmortalt återflöde av urin till livmodern från urinblåsan uteslutas.

4.5 Produktionsdata

Inga signifikanta skillnader observerades mellan RK och VK i total kullstorlek (17,4 respektive 18,2 kultingar), antalet levande födda kultingar (14,7 respektive 15,1 kultingar), antalet dödfödda kultingar (2,5 respektive 2,9 kultingar) eller antalet stenfoster. Resultaten visade inte någon effekt av vare sig kullnummer eller grisningstillfälle för de testade variablerna ($P > 0,05$ för samtliga). Resultatet presenteras grafiskt i figur 7. Samtliga korrigerade medelvärden, standardavvikelser samt P-värden presenteras även i tabell 8. Den genomsnittliga könsfördelningen av kultingarna var för RK 50 % galtar, 50 % gyltor samt 0,04 % misstänkt hermafrodit (motsvarar 1 kulting). För VK var fördelningen 54 % galtar och 46 % gyltor.

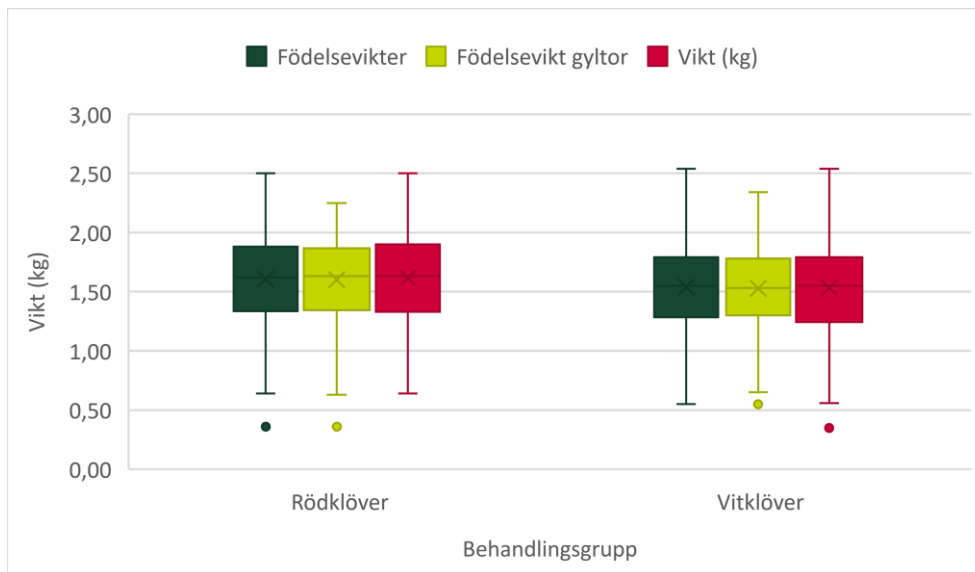
Tabell 8. Totalt antal födda (kullstorlek), levande födda och dödfödda samt kullens totala vikt och medelvikt per född gris för respektive grisningstillfälle för suggor med behandling RK och VK. Korrigerade medelvärden (least square means) inklusive medelfel (standard error) och P-värde.

	RK	SE	VK	SE	P-värde
Kullstorlek	1,7	0,94	18,2	0,79	0,485
Levande födda	14,7	1,35	15,1	1,19	0,814
Dödfödda	2,5	1,35	2,9	1,21	0,844
Kullens totala vikt	23,5	2,22	23,1	2,01	0,877
Medelvikt/född gris	1,4	0,12	1,3	0,108	0,577



Figur 7. Lådagram över totala antalet kulingar, antalet levande födda kulingar, antalet dödfödda kulingar samt antalet i stenfoster i kullarna från suggor som utfodrats med rödklöverensilage respektive vitklöverensilage. Diagrammet visar spridningen av antalet kulingar för alla suggor i respektive grupp från största till minsta värdena med första kvartilen, medianen samt tredje kvartilen. X representerar medelvärdet.

Inga signifikanta skillnader kunde observeras i den totala kullvikten mellan suggorna i RK och VK (23,5 respektive 23,1 kg; $P=0,877$) eller medelvikten per född smågris (1,4 respektive 1,3 kg; $P=0,577$). Inte heller här visade resultatet någon effekt av kullnummer eller grisningstillfälle för de testade variablerna ($P<0,05$ för samtliga). Medelvikten för gyltkulingar respektive galtkulingar för RK inklusive standardavvikelse var $1,6 \pm 0,35$ respektive $1,6 \pm 0,38$. Samma siffror för VK var $1,5 \pm 0,37$ respektive $1,5 \pm 0,41$. Resultaten presenteras grafiskt i figur 8.



Figur 8. Lådagram över samtliga kulingars födelsevikter samt födelsevikterna fördelade i grupper om gyltor och galtar för kulingar efter suggor som utfodrats med rödkläverensilage respektive vitkläverensilage. Diagrammet visar spridningen av födelsevikterna från minsta till största värdena med första kvartilen, medianen samt tredje kvartilen. X representerar medelvärdet.

5. Diskussion

5.1 Produktion

Studiens övergripande syfte var att utreda huruvida en diet rik på rödklöver och fytoöstrogener påverkar suggors produktion, reproduktionsorgan, grisningsbeteende samt grisningsförlopp. Hypotesen var att det inte skulle ha någon signifikant negativ effekt, vilket resultaten från studien kan styrka. Frågeställningen relaterad till produktionsvariabler som studien önskade finna svar på var att utreda om det förekom några skillnader i kullstorlek, antalet levande födda smågrisar, antalet dödfödda smågrisar, antalet stenfoster samt smågrisarnas totala kullvikt och enskilda födelsevikt beroende på om de utfodrats med rödklöverensilage eller vitklöverensilage.

Målet vid smågrisproduktion innefattar robusta hållbara suggor som producerar många, starka och livskraftiga smågrisar. En faktor man arbetar med är smågrisdödligheten. Dyck & Swierstra (1987) identifierade åtta specifika orsaker till smågrisdödlighet varav svält, ihjälklämd av suggan samt dödfödelse bestämdes som huvudorsaker. Frekvensen dödfödelse analyserades i denna studie och resultaten tyder på att det inte finns några betydande skillnader i antalet dödfödelse och inte heller i antalet levande födda kulingar eller antalet stenfoster. Även total kullstorlek var oförändrat beroende på utfodringen. Detta i enlighet med Rehfeldt *et al.* (2007), Li *et al.* (2022), Luo *et al.* (2021) samt Farmer *et al.* (2016) som inte heller såg några skillnader i kullstorlek beroende på om suggan kompletterats med fytoöstrogener i form av daidzein respektive genistein. Däremot finns det en studie som påvisat att tillskott med daidzein till suggor ger en större kullstorlek samt fler levande födda kulingar jämfört med om suggorna inte fick tillskottet (Li *et al.* 2021). Faktorer som kan påverka resultatet inkluderar bland annat antalet suggor i försöket, administrationsväg av fytoöstrogenerna, hur mycket av och vilken fytoöstrogener som kompletterats samt hur länge suggorna fick tillskottet. Li *et al.* (2021) kompletterade 120 suggor med 200 mg daidzein/kg i fodret under dräktigheten vilket är avsevärt högre mängd samt fler suggor än i denna studie samt övriga nämnda studier och därav är resultaten inte helt jämförbara. Ett större

material innebär säkrare resultat som därför kan tänkas överensstämma mer med hur det ser ut i verkligheten.

Det finns även flera studier som undersökt kultingarnas födelsevikt med varierande resultat (Ren *et al.* 2001; Rehfeldt *et al.* 2007; Hu *et al.* 2015; Farmer *et al.* 2016; Li *et al.* 2021; Luo *et al.* 2021). I enlighet med studier där man efter supplementering med fytoöstrogener inte kunnat observera någon skillnad i födelsevikt mellan kultingarna kunde inte heller vi i denna studie fastställa någon sådan skillnad, varken i medelvikten/född kulting eller i den totala kullvikten (Rehfeldt *et al.* 2007; Hu *et al.* 2015; Li *et al.* 2021; Luo *et al.* 2021). Emellertid observerade Ren *et al.* (2001) en högre födelsevikt hos kultingar av hanligt kön vars moder fick tillskott med daidzein jämfört med kultingarna vars moder inte fick det. Detta sågs inte i denna studie. Suggorna i Ren *et al.* (2016) studie fick tillskott på 8 mg daidzein per kg foder från dag 85 i dräktigheten och utfodrades med 2,3–5 kg foder dagligen vilket i jämförelse med innehållet av daidzein i rödklöversilaget som suggorna i denna studie fick (110 mg/kg foder, 4,3 kg foder per dag under dräktigheten), kan anses som en låg dos. Även jämfört med Li *et al.* (2021) använde Ren *et al.* (2001) en betydligt lägre dos. Faktorer som kan påverka resultatet är förekomsten av andra fytoöstrogener i fodret samt övriga komponenter i foderstaten. Även genetik och hur man ha avlat på moderdjuren och avkommorna kan tänkas påverka.

Varken denna studie eller ovan nämnda studier kan påvisa några signifikanta negativa effekter på produktionsvariablerna kullstorlek, antalet levande födda smågrisar, antalet dödfödda smågrisar, antalet stenfoster samt smågrisarnas totala kullvikt samt enskilda födelsevikter.

5.2 Grisningsbeteende och grisningsförlopp

Denna studie syftade också till att utreda huruvida det finns skillnader i grisningsbeteende och grisningsförlopp beroende på utfodring. Eftersom ihjälklämning av suggan samt svält är viktiga orsaker till smågrisdödlighet är det önskvärt att suggan är lugn och ligger på sidan så att kultingen riskfritt kan ta sig fram till juvret för att dia (Špinká & Illmann 2014). Att kultingen kommer fram till juvret och får i sig kolostrum säkert och snabbt är också viktigt för att i förlängningen bli en stark och frisk smågris (Edwards & Baxter 2014). Inga större skillnader i tidsbudgeten kunde observeras mellan suggor som fick rödklöver och de som fick vitklöver, utan suggor ur båda grupperna uppvisade under grisningen beteenden som till största delen utgörs av att ligga på sidan och ge di till kultingarna. Detta är i enlighet med studien av Špinká & Illmann (2014) en positiv moders-egenskap hos suggan. Vid de kontinuerliga observationerna fann den aktuella studien att suggorna tenderade att byta position och lokalisering i boxen mer i början

av grisningen och att när grisningen väl kommit igång var de betydligt mer stillsamma. Inte heller här sågs nämnvärda skillnader mellan grupperna och ingen av grupperna tenderade att innehålla fler oroliga och rastlösa suggor. Så vitt litteraturgenomgången i denna studie kan se, finns i dagsläget ingen ytterligare forskning som undersökt fytoöstrogeners påverkan på suggans beteende under grisningen. Ytterligare en risk för smågrisarna är att fastna i spaltgolvet varför det är fördelaktigt att suggan i huvudsak ligger på liggytan som utgörs av ett helt och platt ströbelagt betonggolvt. Likt grisnings-beteendet finns ingen tidigare forskning på fytoöstrogeners påverkan på suggans lokalisering i boxen. Vi kunde inte se några tydliga skillnader mellan grupperna utan suggorna ur båda grupperna spenderade största delen av tiden på liggytan/ betonggolvet. Trots att få suggor har observerats är en styrka i studien det höga antalet ögonblicksobservationer (5124 observationer) samt det höga antalet minuter som analyserades under de kontinuerliga observationerna (6585 minuter). Det hade varit önskvärt att utföra mer omfattande statistiska analyser på det insamlade materialet för att med större säkerhet fastställa om några skillnader var signifikanta.

Eftersom det är viktigt att smågrisen snabbt kommer åt juvret och börjar dia jämfördes tiden från att första kultingen föddes till dess att den diade mellan suggorna i de två behandlingarna. Medelvärde för denna tidsperiod var lägre för suggorna i behandlingsgruppen (RK) än för kontrollgruppen (VK), men denna skillnad var inte signifikant. I förlängningen är det önskvärt att utvärdera huruvida detta beror på att suggan är rastlös och inte låter smågrisen komma fram till juvret eller om det beror på att smågrisen är svagfödd och inte orkar ta sig fram till juvret. Vad som dock observerades var att suggorna generellt rörde sig mer under de första timmarna av grisningen och man kan därför tänka sig att smågrisar födda senare under grisningsförloppet snabbare tog sig till juvret och började dia. Detta är en teori som ännu inte är undersökt vilket skulle kunna vara en bra ingång för framtida forskning.

En rastlös och orolig sugga medför även en förlängd grisning vilket ökar risken för dödfödslar på grund av syrebrist för fostret (Edwards & Baxter 2014). I denna studie framkom inget stöd för att fytoöstrogen påverkar utdrivningsfasens längd. Li *et al.* (2021) kunde dock observera en skillnad, att supplementering med daidzein signifikant förkortade längden för grisningen. Skillnaderna i resultaten från de olika studierna skulle förslagsvis kunna vara skillnader i dos och typ av fytoöstrogen samt antal suggor i studierna då dessa skiljde sig åt väsentligt. Det finns flera faktorer som påverkar utdrivningsfasen, däribland antalet kultingar i kullen. För att utreda denna faktor jämfördes medeltiden mellan att två kultingar föddes, inte heller här kunde några skillnader mellan RK och VK suggorna observeras. Två suggor, en i vardera behandling, hade långdragna grisningar som krävde intervention av

stallpersonalen. Dessa få tillfällen av dystoki är dock inte tillräckligt för att avgöra om är en behandlingseffekt eller inte eftersom det förekom i lika frekvens i båda grupperna. Kontinuerligt under grisningen avgår suggans efterbörd och generellt förekommer inga problem med kvarbliven efterbörd hos gris. Denna studie jämförde tiden tills att sista efterböörden avgått men fann inga skillnader mellan grupperna. Dessa resultat ska dock tolkas med stor försiktighet eftersom det inte finns några garantier att sista efterböörden hunnit avgå innan suggans första foderintag efter grisning och observationens slut. I flera av observationerna kunde ingen efterbörd observeras över huvud taget.

I smågrisproduktionen är det önskvärt att suggan ska komma igång och äta efter grisningen för att kunna upprätthålla laktationen och samtidigt behålla hullet. Inte heller i tiden till suggans första foderintag kunde några skillnader fastställas mellan grupperna. Det finns inga tidigare studier som undersökt samma tidsintervall men både Hu *et al.* (2015) och Li *et al.* (2022) undersökte suggans foderintag med varierande resultat vilket kan bero på att Li *et al.* (2022) använde sojabaserade isoflavoner och Hu *et al.* enbart använde glycitein som tillskott. Li *et al.* (2022) observerade en linjär ökning av suggans foderintag med ökad dos isoflavoner medan Hu *et al.* (2015) inte observerade några skillnader efter tillskott av glycitein. Studierna hade relativt lika doseringar och behandlingstid samt ett stort antal sugor (227 respektive 120 sugor) varför typ av isoflavontillskott är den största icke-gemensamma faktorn. Det är dock även viktigt att ta hänsyn till övriga faktorer så som management och avel vid tolkning av resultaten. Det är viktigt att komma ihåg att tolka resultatet för grisningsförloppet med en viss försiktighet eftersom faktorer så som kullnummer, omgång eller grisning i försöket inte har analyserats tillsammans med behandling vilket är en potential för förbättring och säkrare resultat. Det hade också varit intressant att genomföra en djupare statistisk analys mellan resultaten från första respektive andra grisningen i försöket för sugor utfodrade med rödklöverensilage för att utreda om durationen av utfodringen med rödklöver påverkar effekterna.

Det finns ingen enhetliga forskningsresultat som utreder hur isoflavoner påverkar grisningsförloppet men varken ovan nämnd litteratur eller denna studie finner något stöd för att en utfodring med höga nivåer av fytoöstrogener negativt påverkar grisningsförloppet samt hur mycket och snabbt suggan intar foder efter grisningen. Denna studie kunde inte heller påvisa några skillnader i suggornas beteende under grisning beroende på om de utfodrats med rödklöverensilage eller vitklöverensilage.

5.3 Reproduktionsorgan

Det finns i dagsläget enbart enstaka studier som undersökt effekten som fytoöstrogener har på saggornas reproduktionsorgan (Ford *et al.* 2006; Xie *et al.* 2022). En studie har fastställt att fytoöstrogener har en liknande men mildare effekt på livmoder och cervix jämfört med endogent östrogen (Ford *et al.* 2006). Resultaten i denna studie visade ingen signifikant ökning i vare sig storlek eller vikt på livmodern eller äggstockarna vid utfodring med en diet innehållande fytoöstrogener. I motsats till detta resultat har Xie *et al.* (2022) i en nyligen publicerad studie funnit att supplementering med daidzein medfört att saggorna fått en högre livmodervikt. Däremot överensstämmer delar av Xie *et al.* (2022) med resultatet i denna studie att det inte förekommer några uppenbara skillnader mellan grupperna i äggstocksvikt och antalet gulkroppar. Värt att notera är att samtliga studier, inklusive denna enbart har undersökt reproduktionsorganen på totalt 12, 14 respektive 11 saggor vilket är för lite material för att kunna dra några säkra slutsatser. I denna studie fann vi inte heller några tydliga skillnader i övriga strukturer på äggstockarna mellan behandlingsgruppen och kontrollgruppen. En äldre suga i kontrollgruppen hade tre follikelcystor och en stor mängd gulkroppar vilket kan anses vara normalvariation för åldern. De patologiska fynden (luteincystor på en suga i behandlingsgruppen) som observerades på äggstockarna förekom i så låg frekvens att det inte går att fastställa att det berodde på utfodringen.

Eftersom smågrisproduktionen bygger på att saggorna efter avvänjning kommer i brunst och blir dräktiga vid inseminering är det viktigt att saggornas östruscykel fungerar som den ska och att brunsterna upptäcks. Brunststyrkan har inte undersökts i denna studie men är en faktor som utvärderas i det pågående projektet som detta arbete är en del av. Vad vi kunde se var dock att samtliga saggor med känt brunstdatum innan slakt bedömdes cykla normalt vilket är positivt. En suga som utfodrats med rödklöver bedömdes inte cykla normalt och misstänktes lida av endometrit baserat på fynd vid obduktion. Utöver det sågs enstaka patologiska avvikelser relaterade till reproduktionsorganen och urinblåsan men det förekom inte i en frekvens där det kan bedömas orsakas av utfodringen.

Denna studie kan inte påvisa några starka belägg för att en utfodringsstrategi innehållande rödklöverensilage negativt påverkar reproduktionsorganen, men mer forskning är väsentligt för att med säkerhet kunna detta eftersom materialet i denna studie var väldigt litet.

Generellt för att en suga ska upprätthålla en god reproduktion och produktion krävs att hon utöver ett gott näringstillstånd även har en god antioxidativ status (Fan *et al.* 2015). Resultat från litteraturstudien tyder enhetligt på att tillskott av olika typer av fytoöstrogener (glycitein, daidzein, genistein, sojabaserade isoflavoner)

ökar saggans antioxidativa förmåga genom att öka nivåerna av antioxidativa enzym (superoxiddismutas, katalas och glutathionperoxidas) i blodet (Hu *et al.* 2015; Li *et al.* 2021, 2022; Luo *et al.* 2021; Xie *et al.* 2022). Flera studier fann även att tillskotten minskade flera markörer för oxidativ stress (malondialdehyd, kortisol, 8-isoprostaglandin F_{2α}) i blodet (Luo *et al.* 2021; Li *et al.* 2022; Xie *et al.* 2022). Många är också enhetliga i resultatet att supplementering av isoflavonerna ger en högre total antioxidantkapacitet hos saggorna (Hu *et al.* 2015; Li *et al.* 2021, 2022; Xie *et al.* 2022). Inga studier har observerat det motsatta, att saggans antioxidantkapacitet försämras av högre nivåer av fytoöstrogener i fodret. Detta stödjer ytterligare vår hypotes att en rödklöverdiet rik på fytoöstrogener inte påverkar reproduktionen negativt. För tydligare koppling hade det dock funnits ett värde i att analysera antioxidativa enzymer och markörer för oxidativ stress i blodet för att undersöka om dessa förändringar även kunde ses i denna studie.

5.4 Felkällor

Samtliga resultat från denna studie bör tolkas med försiktighet eftersom antalet enheter i vardera undersökningsgrupp är få, framför allt för parametrar relaterade till reproduktionsorganen.

Beteendeobservationerna genomfördes med hjälp av videokameror i taket vilket kommer med både för- och nackdelar vid tolkning av resultatet. Fördelaktigt är att man kan utesluta att saggan förändrar sitt beteende på grund av att någon observerar henne fysiskt i stallet vilket ger ett mer tillförlitligt resultat. Det möjliggör även att ögonblicksobservationerna kan ske oftare eftersom flera saggor i samma omgång grisar samtidigt. Däremot medför videoinspelning rakt ovanifrån svårigheter vad gäller att särskilja beteenden som exempelvis urinering och defekation då det kan rinna rakt ner genom spaltgolvet. Eftersom videofilmerna inte spelar in ljud omöjliggör det att särskilja om saggans kommunikation med kultingarna kan vara en faktor i tiden till att första kultingen diar. Vidare beroende på hur saggan står eller ligger i boxen kan det vara lättare eller svårare att observera när kultingar föds eller när efterbördens avgår, framför allt under natten då det råder begränsad belysning i stallet.

Förutsättningarna för studien har behövt anpassas efter Lövsta forskningscentrums produktion vilket föranlett att det inte var möjligt att ha samtliga saggor inom samma omgång vilket hade varit önskvärt för att eliminera så många störande faktorer som möjligt, exempelvis grisningens tidpunkt på året (temperatur och klimat i stallarna). Ytterligare en faktor som väsentligt kan påverka produktionen är galten vars sperma saggorna insemineras med. Val av galt och inseminering har skett enligt Lövsta forskningscentrums gängse rutiner. Om någon av grupperna

överrepresenterats med en viss galt kan det både dölja befintliga skillnader på grund av utfodringen eller ge synliga skillnader som inte beror på utfodringen. Eftersom antalet enheter i grupperna var lågt hade det även varit önskvärt att låta samtliga suggor slaktas i slutet av projektet för utvärdering av reproduktionsorgan då det på grund av väldigt små grupper råder stor osäkerhet kring resultatet.

En viktig styrka i studien som är värd att lyftas är att utfodringsstrategin som använts i hög grad motsvarar utfodring med ensilage som sker ute på konventionella och ekologiska gårdar i Sverige eftersom målet är att kunna inkludera rödklöver i växtföljden i vallen, inte att utfodra med kommersiella tillskott. Av denna anledning blir resultaten också mer verklighetsförankrade.

5.5 Vidare forskning inom området

Många av de studier som undersöker fytoöstrogenernas effekter på suggornas reproduktion och produktion, inklusive denna, har få individer i behandlingsgrupper och kontrollgrupp samt varierande resultat. Av den anledningen krävs vidare forskning för att med större säkerhet kunna avgöra isoflavonernas verkliga effekter. Likaså vad gäller dess effekter på grisningsförlopp och grisningsbeteende då detta inte är undersökt tidigare. Större grupper behövs för att kunna dra mer statistiskt signifikanta slutsatser.

För att få en sammanhängande bild av hur fytoöstrogener i fodret påverkar reproduktionen hos suggorna behövs även studier som inkluderar faktorer som exempelvis omlöpningsfrekvens, styrkan i brunsttecknen och frekvensen aborter. En sådan grundligare undersökning av suggornas reproduktion genomförs i det pågående doktorandprojektet som denna studie är en del av. För att få en helhetsbild är det också önskvärt att följa suggornas kulingar som blivit exponerade för isoflavoner under fosterutvecklingen och utreda hur det påverkar både gyltornas och galtarnas fertilitet. Likaså är det väsentligt att undersöka hur en diet med fytoöstrogener påverkar övriga organsystem.

6. Slutsats

Utgångspunkten för denna studie var att undersöka huruvida en diet bestående av rödklöverensilage signifikant påverkar suggor i smågrisproduktionen negativt med avseende på produktion, reproduktionsorganen, grisningsbeteende och grisningsförlopp. Resultaten av undersökningen bekräftar hypotesen som ställdes i början av projektet, att en diet med rödklöverensilage inte verkar påverka ovan nämnda faktorer i smågrisproduktionen. Resultaten med avseende på suggornas produktion stämmer överens med tidigare publicerad forskning som inte hittat några signifikant negativa effekter av tillskott med olika typer av isoflavoner under dräktighet och laktation. I litteraturen framgår det dessutom att supplementering kan innebära en förbättrad reproduktion genom att förbättra suggans antioxidativa status. Tidigare publicerad litteratur har studerat enstaka separata aspekter kopplade till reproduktionsorganen och grisningsförloppet hos suggor men ingen har tidigare studerat hur fytoöstrogener påverkar samtliga reproduktionsorgan och grisningsförloppet inklusive grisningsbeteendet i sin helhet varför detta resultat är särskilt betydelsefullt. Resultatet att inga negativa effekter observerats vid en diet rik på fytoöstrogener är betydelsefullt, men det är viktigt att beakta begränsningar i studien, framför allt i form av små undersökningsgrupper.

Vidare forskning krävs för att få en större helhetsbild av effekterna som fytoöstrogener har på suggor i smågrisproduktion. Denna forskning i kombination med övrig befintlig forskning kan dock utgöra en värdefull grund till framtida utfodringsrekommendationer för smågrisproduktion.

Referenser

- Adams, N.R. (1995). Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *Journal of Animal Science*, 73 (5), 1509–1515. <https://doi.org/10.2527/1995.7351509x>
- Akula, S.M., Hurley, D.J., Wixon, R.L., Wang, C. & Chase, C.C.L. (2002). Effect of genistein on replication of bovine herpesvirus type 1. *American Journal of Veterinary Research*, 63 (8), 1124–1128. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2002.63.1124>
- Beattie, V.E., O’Connell, N.E. & Moss, B.W. (2000). Influence of environmental enrichment on the behaviour, performance and meat quality of domestic pigs. *Livestock Production Science*, 65 (1), 71–79. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00179-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00179-7)
- Bennetts, H.W., Underwood, E.J. & Shier, F.L. (1946). A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Australian Veterinary Journal*, 22 (1), 2–12. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1946.tb15473.x>
- Bešlo, D., Došlić, G., Agić, D., Rastija, V., Šperanda, M., Gantner, V. & Lučić, B. (2022). Polyphenols in ruminant nutrition and their effects on reproduction. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11 (5), 970. <https://doi.org/10.3390/antiox11050970>
- Brzezinski, A. & Debi, A. (1999). Phytoestrogens: the ”natural” selective estrogen receptor modulators? *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 85 (1), 47–51. [https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(98\)00281-4](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(98)00281-4)
- Degen, G.H., Janning, P., Diel, P., Michna, H. & Bolt, H.M. (2002). Transplacental transfer of the phytoestrogen daidzein in DA/Han rats. *Archives of Toxicology*, 76 (1), 23–29. <https://doi.org/10.1007/s00204-001-0305-7>
- Dyck, G.W. & Swierstra, E.E. (1987). Causes of piglet death from birth to weaning. *Canadian Journal of Animal Science*, 67 (2), 543–547. <https://doi.org/10.4141/cjas87-053>
- Edwards, S.A. & Baxter, E.M. (2014). Ch. 11. Piglet mortality: causes and prevention. I: Farmer, C. (red.) (2014). *The gestating and lactating sow*. Wageningen Academic Publishers. 253–278. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-803-2_11
- Europeiska kommissionens förordning (EG) nr 886/2008 (2008). *Kommissionens förordning (EG) nr 889/2008 av den 5 september 2008 om tillämpningsföreskrifter för rådets förordning (EG) nr 834/2007 om ekologisk produktion och märkning av ekologiska produkter med avseende på ekologisk produktion, märkning och kontroll. OJ L*. <http://data.europa.eu/eli/reg/2008/889/oj/swe> [2022-09-21]
- Fan, Z., Xiao, Y., Chen, Y., Wu, X., Zhang, G., Wang, Q. & Xie, C. (2015). Effects of catechins on litter size, reproductive performance and antioxidative status in gestating sows. *Animal Nutrition (Zhongguo Xu Mu Shou Yi Xue Hui)*, 1 (4), 271–275. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.11.002>
- Farmer, C., Robertson, P., Xiao, C.W., Rehfeldt, C. & Kalbe, C. (2016). Exogenous genistein in late gestation: effects on fetal development and sow and piglet

- performance. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*, 10 (9), 1423–1430. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000355>
- Ford, J.A., Clark, S.G., Walters, E.M., Wheeler, M.B. & Hurley, W.L. (2006). Estrogenic effects of genistein on reproductive tissues of ovariectomized gilts. *Journal of Animal Science*, 84 (4), 834–842. <https://doi.org/10.2527/2006.844834x>
- Fox, J. (2005). The R Commander: A basic-statistics graphical user interface to R. *Journal of Statistical Software*, 14 (9), 1–42. <https://doi.org/10.18637/jss.v014.i09>
- Friard, O. & Gamba, M. (2016). BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, 7 (11), 1325–1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>
- Grgic, D., Varga, E., Novak, B., Müller, A. & Marko, D. (2021). Isoflavones in animals: metabolism and effects in livestock and occurrence in feed. *Toxins*, 13 (12), 836. <https://doi.org/10.3390/toxins13120836>
- Gu, L., House, S.E., Prior, R.L., Fang, N., Ronis, M.J.J., Clarkson, T.B., Wilson, M.E. & Badger, T.M. (2006). Metabolic phenotype of isoflavones differ among female rats, pigs, monkeys, and women. *The Journal of Nutrition*, 136 (5), 1215–1221. <https://doi.org/10.1093/jn/136.5.1215>
- Göransson, L. (2010). *Utfodring av suggor*. Svenska Pig. <https://docplayer.se/24546871-Utfodring-av-suggor-forfattare-leif-goransson-agr-dr-i-husdjurens-utfodring-och-var-d-2010-utfodring-4.html> [2022-09-21]
- Göransson, L. & Lindberg, J.E. (2011). *Näringsrekommendationer ver. 2011.1*. https://www.slu.se/globalassets/ew/org/inst/huv/bilder/bilder-fran-gamla-webben/verktyg/fodermedel-och-naringsrek-till-gris/naringsrekommendationer/naringsrekommendation_energi_2011_1.pdf [2022-12-05]
- Hu, Y.J., Gao, K.G., Zheng, C.T., Wu, Z.J., Yang, X.F., Wang, L., Ma, X.Y., Zhou, A.G. & Jiang, Z.J. (2015). Effect of dietary supplementation with glycitein during late pregnancy and lactation on antioxidative indices and performance of primiparous sows. *Journal of Animal Science*, 93 (5), 2246–2254. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7767>
- Höjer, A., Bernes, G. & Gustavsson, A.-M. (2013). *Fytoöstrogener i foder och mjölk*. Umeå: NYTT från institutionen för norrländsk jordbruksvetenskap, SLU. https://pub.epsilon.slu.se/10945/11/hojer_a_etal_131220.pdf [2022-10-25]
- Jordbruksverket (2021). *Foder i ekologisk produktion*. (Jordbruksinformation 4-2021). Jönköping: Jordbruksverket. https://www2.jordbruksverket.se/download/18.26a8ef1317cf228628ba9924/1636373797140/jo21_4.pdf [2022-09-21]
- Kim, S.W., Weaver, A.C., Shen, Y.B. & Zhao, Y. (2013). Improving efficiency of sow productivity: nutrition and health. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4 (1), 26. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-26>

- KRAV ekonomisk förening (2022). 5.4.6.1 Självförsörjningsgrad för grisar. <https://regler.krav.se/unit/krav-regulation/9853eddf-8294-4727-8346-d3d607b10660> [2022-10-17]
- Lecot, S., Belouzard, S., Dubuisson, J. & Rouillé, Y. (2005). Bovine viral diarrhoea virus entry is dependent on clathrin-mediated endocytosis. *Journal of Virology*, 79 (16), 10826–10829. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.16.10826-10829.2005>
- Li, D., Dang, D.X., Xu, S., Tian, Y., Wu, D. & Su, Y. (2022). Soy isoflavones supplementation improves reproductive performance and serum antioxidant status of sows and the growth performance of their offspring. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 106 (6), 1268–1276. <https://doi.org/10.1111/jpn.13667>
- Li, Y., He, G., Chen, D., Yu, B., Yu, J., Zheng, P., Huang, Z., Luo, Y., Luo, J., Mao, X., Yan, H. & He, J. (2021). Supplementing daidzein in diets improves the reproductive performance, endocrine hormones and antioxidant capacity of multiparous sows. *Animal Nutrition (Zhongguo Xu Mu Shou Yi Xue Hui)*, 7 (4), 1052–1060. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.09.002>
- Lundh, T. (1995). Metabolism of estrogenic isoflavones in domestic animals. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 208 (1), 33–39. <https://doi.org/10.3181/00379727-208-43828>
- Lundh, T.J.O., Pettersson, H.I. & Martinsson, K.A. (1990). Comparative levels of free and conjugated plant estrogens in blood plasma of sheep and cattle fed estrogenic silage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38 (7), 1530–1534. <https://doi.org/10.1021/jf00097a022>
- Luo, W., Yin, X., Yao, J., Cheng, J., Zhang, J., Xu, W., Mu, Y. & Xu, J. (2021). Fermented soybean meal affects the reproductive performance and oxidative status of sows, and the growth of piglets. *Animals*, 11 (3), 597. <https://doi.org/10.3390/ani11030597>
- Löfquist, I. (2022). *Starta eko - Gris*. (Jordbruksinformation 2-2022). Jönköping: Jordbruksverket. https://www2.jordbruksverket.se/download/18.77f30be517f1a3c14101441e/1645441368447/jo22_2.pdf [2022-11-30]
- Miller, H.D. (2015). *Effects of Isoflavones on the Spermatogenesis of Prepuberal Bovine Bulls*. (Master's thesis). Angelo State University.
- Mustonen, E., Taponen, S., Andersson, M., Sukura, A., Katila, T. & Taponen, J. (2014). Fertility and growth of nulliparous ewes after feeding red clover silage with high phyto-oestrogen concentrations. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*, 8 (10), 1699–1705. <https://doi.org/10.1017/S175173111400161X>
- Omede, A., Opara, M. & Ifeanyi Charles, O. (2009). The significance of phytohormones in animal production. *International Journal of Tropical Agriculture and Food Systems*, 2. <https://doi.org/10.4314/ijotafs.v2i1.40966>
- Ososki, A.L. & Kennelly, E.J. (2003). Phytoestrogens: A review of the present state of research. *Phytotherapy Research*, 17 (8), 845–869. <https://doi.org/10.1002/ptr.1364>

- Pace, V., Carbone, K., Spirito, F., Iacurto, M., Terzano, M.G., Verna, M., Vincenti, F. & Settineri, D. (2006). The effects of subterranean clover phytoestrogens on sheep growth, reproduction and carcass characteristics. *Meat Science*, 74 (4), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.006>
- Pool, K.R., Kent, T.C. & Blache, D. (2021). Oestrogenic metabolite equol negatively impacts the functionality of ram spermatozoa in vitro. *Theriogenology*, 172, 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.07.005>
- Presto, M., M, R. & Wallenbeck, A. (2013). Inclusion of grass/clover silage in the diet of growing/ finishing pigs – Influence on pig time budgets and social behaviour. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal*, 63. <https://doi.org/10.1080/09064702.2013.793734>
- Presto Åkerfeldt, M. (2022). *Ökat utnyttjande av vall i foder till grisar*. [Projektbeskrivning]. <https://www.slu.se/fakulteter/vh/forskning/forskningsprojekt/gris/okutnyttjande-av-vall-i-foder-till-grisar/> [2022-11-30]
- Presto Åkerfeldt, M., Holmström, S., Wallenbeck, A. & Ivarsson, E. (2018). Inclusion of intensively manipulated silage in total mixed ration to growing pigs – influence on silage consumption, nutrient digestibility and pig behaviour. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science*, 68 (4), 190–201. <https://doi.org/10.1080/09064702.2020.1725104>
- Rehfeldt, C., Adamovic, I. & Kuhn, G. (2007). Effects of dietary daidzein supplementation of pregnant sows on carcass and meat quality and skeletal muscle cellularity of the progeny. *Meat Science*, 75 (1), 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.06.028>
- Ren, M.Q., Kuhn, G., Wegner, J., Nürnberg, G., Chen, J. & Ender, K. (2001). Feeding daidzein to late pregnant sows influences the estrogen receptor beta and type 1 insulin-like growth factor receptor mRNA expression in newborn piglets. *The Journal of Endocrinology*, 170 (1), 129–135. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1700129>
- Runyan, C.A., Yurrita, S.C., Dickison, J.W. & Salisbury, M.W. (2018). 116 Evaluation of age of dam and phytoestrogens on growth and semen quality measures in yearling bulls. *Journal of Animal Science*, 96 (suppl_1), 62. <https://doi.org/10.1093/jas/sky027.116>
- SAS Institute Inc. (2021). *Statistical Analysis Software, SAS/STAT*. Eng, SAS Campus Drive, Cary, North Carolina 27513, USA.
- Sivesind, E. & Seguin, P. (2005). Effects of the environment, cultivar, maturity, and preservation method on red clover isoflavone concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (16), 6397–6402. <https://doi.org/10.1021/jf0507487>
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O. & Hove, K. (2016). *Physiology of Domestic Animals*. 3. uppl. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Špinka, M. & Illmann, G. (2014). Ch. 13. Nursing behaviour. I: Farmer, C. (red.) (2014). *The gestating and lactating sow*. Wageningen Academic Publishers. 297–318. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-803-2_13

- Svensson, C., Stabo, S., Löfquist, I. & Andresen, N. (2013). *Vägen till ekologisk grisproduktion*. (Jordbruksinformation 2-2013). Jönköping: Jordbruksverket https://www2.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/trycksaker/Pdf_jo/jo13_2.pdf [2022-11-30]
- Toebes, A.H.W., de Boer, V., Verkleij, J.A.C., Lingeman, H. & Ernst, W.H.O. (2005). Extraction of isoflavone malonylglucosides from *Trifolium pratense* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (12), 4660–4666. <https://doi.org/10.1021/jf047995f>
- Trněný, O., Vlk, D., Macková, E., Matoušková, M., Řepková, J., Nedělník, J., Hofbauer, J., Vejražka, K., Jakešová, H., Jansa, J., Piálek, L. & Knotová, D. (2019). Allelic variants for candidate nitrogen fixation genes revealed by sequencing in red clover (*Trifolium pratense* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (21), 5470. <https://doi.org/10.3390/ijms20215470>
- Tsao, R., Papadopoulos, Y., Yang, R., Young, J.C. & McRae, K. (2006). Isoflavone profiles of red clovers and their distribution in different parts harvested at different growing stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (16), 5797–5805. <https://doi.org/10.1021/jf0614589>
- Urpi-Sarda, M., Morand, C., Besson, C., Kraft, G., Viala, D., Scalbert, A., Besle, J.-M. & Manach, C. (2008). Tissue distribution of isoflavones in ewes after consumption of red clover silage. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 476 (2), 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.05.002>
- Weidow, B. (2018). *Växtodlingens grunder*. 1. uppl. Natur & Kultur Läromedel.
- Wyse, J., Latif, S., Gurusinghe, S., McCormick, J., Weston, L.A. & Stephen, C.P. (2022). Phytoestrogens: A review of their impacts on reproductive physiology and other effects upon grazing livestock. *Animals*, 12 (19), 2709. <https://doi.org/10.3390/ani12192709>
- Xie, K., Li, Y., He, G., Zhao, X., Chen, D., Yu, B., Luo, Y., Mao, X., Huang, Z., Yu, J., Luo, J., Zheng, P., Yan, H., Li, H. & He, J. (2022). Daidzein supplementation improved fecundity in sows via modulation of ovarian oxidative stress and inflammation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 110, 109145. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2022.109145>
- Zhao, X.H., Chen, Z.D., Zhou, S., Song, X.Z., Ouyang, K.H., Pan, K., Xu, L.J., Liu, C.J. & Qu, M.R. (2017). Effects of daidzein on performance, serum metabolites, nutrient digestibility, and fecal bacterial community in bull calves. *Animal Feed Science and Technology*, 225, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.014>
- Åkerfeldt, M. & Wivstad, M. (2022). *Hundra procent ekologiskt foder till grisar - foderråvaror och utfodringsstrategier*. SLU ekologisk produktion och konsumtion. https://www.slu.se/globalassets/ew/org/centrb/epok/dokument/ekogrisfoder-ecofeed_web.pdf [2022-11-30]
- Ögren, E. (2003). *Gröngödsling i ekologisk grönsaksodling*. (Jordbruksinformation 8–2003). Jönköping: Jordbruksverket. http://www2.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/trycksaker/Pdf_jo/jo03_8.pdf [2022-11-30]

Populärvetenskaplig sammanfattning

Det finns ett tilltagande intresse för ekologisk produktion vilket ställer krav på daglig tillgång till grovfoder för grisarna. Dessutom finns det studier som visat att utfodring med ensilage har potential att öka grisarnas välfärd, då de får möjlighet att utföra mer av sitt naturliga beteende vilket i sin tur minskar uppvisandet av aggressiva beteenden. Vallfoder är en form av grovfoder som kan ensileras och en vanlig planta att inkludera i växtföljden är rödklöver. Positiva aspekter med rödklöver i vallen är dess tålighet mot torka, höga proteininnehåll samt förmåga att binda kväve från luften och på så vis tillföra jorden näring. Många typer av rödklöver är däremot rika på fytoöstrogener i form av isoflavoner. Fytoöstrogener är en grupp föreningar som både strukturellt och funktionellt liknar däggdjurens kroppsegna östrogena hormon. De har ett brett spektrum av effekter på kroppen på grund av att östrogen normalt sett påverkar många olika organsystem. Redan 1940 upptäckte man i Australien att fytoöstrogener kan påverka idisslare negativt, bland annat i form av infertilitet, förlossningsproblem, livmoderframfall och livmoder-inflammationer med mera. Även vissa positiva effekter har observerats i form av exempelvis förbättrad immunstatus samt tillväxt hos kalvar. I dagsläget rekommenderar man att utesluta rödklöver från foder till sugor på grund av rädsla för negativa hälsoeffekter på framför allt deras reproduktion.

Denna studie syftade till att utreda vilka effekter en rödklöverbaserad diet med höga halter av fytoöstrogener har på suggors produktion, reproduktionsorgan, grisningsbeteende samt grisningsförlopp. Detta för att i förlängningen kunna svara på frågan om det är säkert att inkludera rödklöver i suggors foderstat. För att utreda frågan följdes 21 sugor under två grisningsomgångar på Lövsta Forskningscentrum. Suggorna fördelades i två grupper, en behandlingsgrupp och en kontrollgrupp. Behandlingsgruppen utfodrades med rödklöverensilage med höga halter av fytoöstrogener och kontrollgruppen utfodrades med vitklöverensilage med låga halter av fytoöstrogener. För att få likvärdiga grupper matchades suggorna i vardera grupp med avseende på kullnummer. Suggorna inseminerades och gick i gruppboxar tills det var en vecka kvar till grisning. Då flyttades de in i grisningsboxar där de gick ensamma. Grisningarna filmades med hjälp av en videokamera rakt över grisningsboxen för beteendestudier. För att undersöka suggans beteende under grisningen samt hennes grisningsförlopp gjordes både kontinuerliga observationer (15 minuter varje timme) samt ögonblicksobservationer (var 5:e minut). Syftet med beteendestudierna var att undersöka om någon grupp av sugor var mer rastlösa och oroliga samt vilka beteenden som dominerade under grisningen. Utöver det undersöktes även om det förekom skillnader mellan grupperna med avseende på grisningsförlopp. Resultaten visade att suggorna spenderade den största delen av sin tid med

att ligga på sidan och ge di på liggytan i boxen samt rörde sig mest de första timmarna av grisningen. Inga större skillnader i grisionsförlopp eller grisionsbeteende kunde påvisas mellan de båda grupperna.

I samband med grisningen registrerades även antalet födda kultingar, antalet levande födda kultingar, antalet dödfödda kultingar, antalet stenfoster, antalet hankultingar respektive honkultingar samt alla kultingars födelsevikt och kullens totala vikt. Registreringen genomfördes av personal på Lövsta forskningscentrum. Dessa variabler jämfördes mellan behandlingsgruppen och kontrollgruppen. Sammantaget observerades inga signifikanta skillnader mellan grupperna. Det finns ett fåtal studier som har genomfört liknande undersökningar men utan några enhetliga resultat.

11 suggor valdes med omsorg och med hjälp av matchning mellan grupperna ut i slutet av projektet för att slaktas för obduktion. Slakten skedde ungefär en vecka efter avvänjningen från smågrisarna. Obduktion genomfördes därefter med avseende på reproduktionsorganen (livmoder, äggstockar, livmoderhals, yttre genitalia samt urinblåsa). Inga märkbara skillnader i storlek och vikt på livmoder och äggstock kunde observeras mellan grupperna, inte heller några skillnader i antalet normala strukturer på äggstockarna (gulkroppar, folliklar, äldre dräktighetsgulkroppar). En sugga i behandlingsgruppen bedömdes inte cykla normalt samt hade luteincystor på äggstockarna och misstänkt livmoderinfektion. En sugga i kontrollgruppen hade också förändringar på äggstockarna men i form av follikelcystor vilket inte är ovanligt för äldre suggor. Tre suggor hade patologiska förändringar på urinblåsan varav en i kontrollgruppen uppvisade flertalet små blödningar i urinblåsans slemhinna. De andra två tillhörde behandlingsgruppen varav den ena hade rikligt med små urinstenar och den andra hade en mild urinblåseinflammation.

Överlag tyder resultaten i denna studie på att det inte förekommer några signifikanta negativa effekter av en diet med höga halter av fytoöstrogener på suggornas produktion, reproduktionsorgan, grisionsförlopp och grisionsbeteende. Det är dock viktigt att beakta begränsningar i studien, framför allt i form av få individer i varje grupp. Därav är det viktigt att tolka resultaten med försiktighet och det gör det även svårt att dra säkra slutsatser. Det krävs vidare forskning för att med större säkerhet kunna utreda och fastställa fytoöstrogenernas effekter på suggorna och vidare även på deras avkommor. Denna studie kan dock i kombination med övrig befintlig forskning utgöra en värdefull grund till framtida utfodringsrekommendationer för suggor i smågrisproduktion.

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till min handledare Magdalena Åkerfeldt som gav mig möjlighet att delta i detta forskningsprojekt. Tack för din utomordentliga handledning och snabba återkoppling, både på specifika frågor och med generell feedback.

Stort tack även till min biträdande handledare och doktorand Emy Vu för stort engagemang och hjälplighet i att svara på otaliga frågor, även långt utanför arbetstid. Tack även för ditt varma välkomnande till institutionen för husdjurens utfodring och vård.

Bilaga 1

Events for "Sugga 11 grisn 2" observation

	time	subject	code	type	modifier	comment
1	01:03:10.156		Observationsstart			
2	01:03:30.906		Ligger på sidan			
3	01:03:33.907		Spalt (lokalisering)			
4	01:03:55.654		Grisningens start			
5	01:04:18.904		Utforskande beteende			
6	01:04:19.404		Står			
7	01:04:23.652		Social kontakt med smågrisarna			
8	01:04:35.903		Utforskande beteende			
9	01:05:02.404		Står			
10	01:05:11.902		Lokalisationsförändring			
11	01:05:13.402		Liggyta (lokalisering)			
12	01:05:35.403		Social kontakt med smågrisarna			
13	01:06:16.403		Utforskande beteende			
14	01:07:28.402		Utforskande beteende			
15	01:08:05.655		Lokalisationsförändring			
16	01:08:06.156		Spalt (lokalisering)			
17	01:08:38.903		Lokalisationsförändring			
18	01:08:39.653		Liggyta (lokalisering)			
19	01:08:59.903		Ligger på sidan			
20	01:09:43.905		Utforskande beteende			

Figur 9. Exempel på hur beteenderegistreringar samt registreringar för grisningsförloppet noteras i programmet BORIS.

Bilaga 2

Tabell 9. Exempel på hur rådata för grisningsförloppet sammanställdes efter tidsangivelserna som anges vid registreringarna i BORIS. Värdena är angivna i minuter.

Gris-ID	Tiden från att suggan lägger sig till första griskultingen föds	Tiden från första smågrisens födelse till att den diar	Tiden till suggans första foderintag efter grisning	Tiden för efterbördsfasen	Totala tiden för grisningen	Tider mellan att smågrisarna föds	Medeltiden mellan 2 smågrisar
2	5.80	128.25	245.42	118.83	289.85	170.66, 7.82, 2.63, 1.87, 22.82, 33.92, 29.08, 20.25	23.38
3	39.00	33.68	5.92	-	220,83	1.17, 20.12, 8.33, 21.35, 2.93, 10.15, 7.03, 0.68, 13.97, 2.83	12.23

Osv

Bilaga 3

KULLBLANKETT															
Moder öronnr: 32710		Ras: L77		föd år: 20		kull nr: 2		Fader öronnr: 24276		Ras: H		Box: 1303		Löpnr: 2392	
GRUPP		föd vikt	räkna på ren XY	Avv vikt	9v. Vikt	Utgångna djur, missbildningar						Adopterad till	Flyttad till eller		
nr	smågris ID	kön	A M D	A M D	A M D	ANV	Datum, vikt, orsak	Adopterad från		Flyttad från		Dat	Box	Dat	Box
1	38786	2	2.1219				210221								
2	787	2	1.69												
3	788	2	0.97												
4	789	2	1.63												
5	790	2	0.91												
6	791	1	2.04												
7	792	1	2.28												
8	793	1	2.36												
9	794	1	1.14												
10	795	1	1.33												
11	796	1	1.25												
12	797	1	1.25												
13	798	1	1.13												
14	799	1	1.20												
15	800	1	1.16												
16	801	1	0.79												

Antal lev födda: 18	Bytt till stor bricka på	Slaktbox	SUGGAN	I	A	M	D	I	KG	EKO	Fe 1	datum: 22/12	Sign: HYLE
Antal dödfödda: 1	Avelsdjur vid 9 veckor	datum flytt:	GRISN	121219	1295	21	Antal digivande spenar:						
Antal stenfoster: 1	Störning och behandling av suggar		AVVÄNJA	I	I	Bogsår höger: 0 1 2 3 4 Bogsår vänster: 0 1 2 3 4							
Grisningsbeteende	Datum när bogsår uppstår		Störning och behandling av kullen										

https://arbetsplats.slu.se/sites/vhfak/vhi/lovsta/gris/_layouts/15/xp/printview.aspx?sessionId=36.2be9147e-38b3-40dd-b768-807e932f6c481.D92.1.V24.4092nJDH2xunAtNGPbM5Pmq14.5.sv-SE5.sv-SE36.6eefc450-... 1/2

Figur 10. Exempel på hur kullblanketter som fylls i av personal på Lövsta Forskningscentrum ser ut.

Bilaga 4

Undersökningsresultat könsorgan sugga

Id nummer: _____ Slaktdatum: _____

Undersökare: _____ Undersökningsdatum: _____

Höger äggstock

Vikt: _____ gram

CL (antal, storlek, färg) och folliklar (storlek), övrigt: _____

Vänster äggstock

Vikt: _____ gram

CL (antal, storlek, färg) och folliklar (storlek), övrigt: _____

Uterus

Vikt från bifurkationen: _____ gram Ödem: Nej Lindrigt Måttligt Kraftigt

Diameter vid bifurkationen hö: _____ cm Diameter 30cm från bifurkationen hö: _____ cm

Diameter vid bifurkationen vä: _____ cm Diameter 30cm från bifurkationen vä: _____ cm

Längd hö från bifurkation till UTJ: _____ cm Längd vä från bifurkation till UTJ: _____ cm

Äggledare: _____

Äggstocksicka: _____

Cervix, vagina, vestibulum, vulva: _____

Urinblåsa: _____

Provtagningar/övrigt: Biopsier 10% Formalin 30 cm in i uterus från bifurkation bägge horn

Diagnos/cykelstadium: _____

Figur 11. Obduktionsprotokoll som användes vid utvärdering av reproduktionsorganen efter slakt.

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. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

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

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