

# Klöver i ensilage till suggor - effekter på reproduktion och produktivitet

*Rebecka Jönsson*





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för husdjursgenetik

## **Klöver i ensilage till suggor - effekter på reproduktion och produktivitet**

Clover in silage for sows - effects on reproduction and productivity

*Rebecka Jönsson*

**Handledare:**

Anna Wallenbeck, SLU, Institutionen för husdjursgenetik

**Examinator:**

Emma Ivarsson, SLU, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Kandidatarbete i husdjursvetenskap

**Kurskod:** EX0553

**Program:** Agronomprogrammet–Husdjur

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2013

**Omslagsbild:** Rebecka Jönsson

**Serienamn, delnr:** Examensarbete / SLU, Institutionen för husdjursgenetik, 415

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Klöver, ensilage, suggor, reproduktion, isoflavoner, växtöstrogener  
**Key words:** Clover, silage, reproduction, isoflavones, phytoestrogens

## Abstract

The weather has been extremely rainy the last summers in Sweden. Because of the rain, a lot of harvested straw has been lost since it was too wet to store. When the pig producers couldn't get enough straw to use as bedding, an alternative was requested. Silage is a realistic alternative to straw but since silage often contains clover, it may not be suitable to use in pig production since clover is rich in phytoestrogens. Compared to the most common clover species cultured in Sweden, red clover (*Trifolium pratense*) contains most phytoestrogens. It has been reported that clover has caused fertility issues in both cattle and sheep but it is still unknown how clover affects the fertility of sows. However, hormonal changes have been reported in sows that have eaten the same amount phytoestrogens they would normally eat with a diet including soy beans (*Glycine max*). Since the main phytoestrogens in red clover have a less estrogenic activity than the main phytoestrogens in soy beans, the results are not fully comparative with a diet containing red clover. Sows tend to be less sensitive to phytoestrogens than ruminants. It also seems that phytoestrogens also could have a positive impact on pig production. More research is needed but until then, cautious feeding with red clover silage is recommended.

## Sammanfattning

De senaste somrarna i Sverige har inneburit extrema mängder nederbörd vilket har resulterat i att halmskörden har gått förlorad. Eftersom halm används som strömedel till grisar har grisproducenter efterfrågat ett alternativt strömedel. Ensilage är ett realistiskt alternativ till halm men då ensilage ofta innehåller klöver ställs frågan om det är ett lämpligt strömedel i och med att klöver innehåller växtöstrogener. Rödklöver (*Trifolium pratense*) är den klöverart som innehåller högst halt växtöstrogener av de klöverarter som odlas i Sverige. Det har rapporterats att både får och nötkreatur som betat på klövervall har fått reproduktionsstörningar av olika slag men hur sugor påverkas av växtöstrogener är relativt outforskat. Även grisar riskerar hormonella förändringar vid intag av de vanligaste växt-östrogenerna som finns i soja (*Glycine max*). Eftersom rödklöverns huvudsakliga växt-östrogener är mindre östrogen aktiva än sojans, är inte resultaten helt jämförbara med intag av rödklöver. Grisar tenderar att vara mindre känsliga för växtöstrogener än idisslare och det har även rapporterats positiva effekter efter intag av växtöstrogener hos gris. Dock behövs mer forskning inom området och tillsvidare bör utfodring av klöverensilage ske med viss försiktighet.

## Inledning

Enligt svensk lag ska grisar (*Sus scrofa domestica*) ha strö i sina boxar som ger en mjuk bädd och tillfredställer djurens sysselsättningsbehov (Statens jordbruksverk, 2011). Det strömedel som rekommenderas är halm men vid extrema väderförhållanden under sommaren kan halmskörden gå förlorad eller bli starkt reducerad och det blir då svårt att tillhandahålla den mängd halm som krävs i stallarna. Som ett alternativ till halm kan man istället använda ensilage som strömedel (Svenska Pig, 2013), det kan vara aktuellt i både konventionell och ekologisk produktion. Grisproduktionen har intensifierats de senaste decennierna och då man i svensk grisproduktion bedriver omgångsuppfödning är det viktigt att få alla suggor i brunst samtidigt efter avvänjning. Brunster och grisningar sker synkroniserat och reproduktionsstörningar försvårar grisuppfödarnas planering och försämrar produktiviteten. Då de senaste somrarnas extremt blöta väder inneburit en minskad mängd skördad halm i Sverige har behovet av alternativa strömedel uppkommit med ensilage som ett realistiskt alternativ. Svenska Pig (2013) har lyft frågan om hur mycket klöverensilage man kan utfodra och/eller ge som strö till suggor utan att reproduktionen störs då klöverns östrogena egenskaper är vida känt.

Klöver (*Trifolium sp.*) blandas ofta in i vallen då det binder kväve från luften (Bansal, 2007). På så vis får man ett proteinrikare foder men man bibehåller även en näringsrik åkermark som är hållbar ur ett längre perspektiv. Klöver verkar som ett naturligt gödningsmedel och är framförallt en viktig vallväxt i ekologisk produktion där man inte tillåts använda handelsgödsel (Statens jordbruksverk, 2013). Enligt regelverket för ekologisk produktion ska grisar ha tillgång till grovfoder i någon form (Statens jordbruksverk, 2012) och då är vallensilage ett alternativ (Anna Wallenbeck, 2013, Pers. kom.). Utfodring med klöver kan dock medföra negativa konsekvenser. Adams (1995) har i en översiktsartikel sammanfattat dokumenterade reproduktionsstörningar hos nötkreatur och får som fodrats med klöverrika fodermedel. Störningar som har påträffats är bland annat nedsatt funktion av livmodern, försämrad fruktsamhet och ökat antal kastningar. Anledningen till detta anses vara att klöver innehåller östrogena substanser, så kallade växtöstrogener.

Forskningen på hur utfodring av klöverensilage påverkar suggors reproduktionsförmåga är ytterst begränsad. Därför är syftet med den här uppsatsen att sammanställa den forskning som finns rapporterad rörande växtöstrogener i klöver och dess inverkan på reproduktion och fertilitet hos suggor. Ur ett praktiskt perspektiv efterfrågas kunskap om huruvida suggor är känsliga för klöverns växtöstrogener och hur mycket klöver man kan ge suggor utan att riskera reproduktionsstörningar. För att få svar på det krävs kunskap om vilka växtöstrogener som förekommer i klöver samt dess påverkan på biologiska processer för djur i allmänhet och gris i synnerhet.

## Suggor och gyltor i svensk slaktsvinsproduktion

Av hälso- och produktionskäl rekommenderar Jordbruksverket (2010) att man i grisproduktion bedriver omgångsuppfödning. Det innebär att alla suggor och gyltor sätts i brunst samtidigt i en produktionsomgång för att sedan insemineras, grisa och avvänjas samtidigt i grupp. Systemet kräver noggrann planering men medför att stallrengöring och flytt av djur effektiviseras och att risken för smittspridning minskar (Ewing, 2007b). Enligt svensk lag ska suggor gå i par eller grupp och får således inte hållas enskilt förutom vid grisning och digivning. Grisarna ska ha strö som tillgodoser deras sysselsättnings- och komfortbehov (Statens jordbruksverk, 2010). Man brukar därför hålla suggor i grupp på djupströbädd vilket kräver en stor mängd halm eller annat strömedel (Ewing, 2007b). Dräktiga suggor och gyltor

har ett betydligt lägre protein- och energibehov än digivande suggor och växande grisar. De har även relativt god förmåga att bryta ner växtfiber och ta upp näring från grovfoder (Noblet et al., 1993; Le Goff et al., 2002), därför finns det större möjligheter att byta ut delar av den spannmålsbaserade dieten med grovfoder för sinsuggor (Ewing, 2007a). Vid KRAV-certifierad produktion ska alla grisar ha fri tillgång på grovfoder (KRAV, 2013). Enligt SLU:s rekommendationer kräver avvanda suggor 67-80 MJ omsättbar energi (OE) per dygn fram till inseminering (SLU, 2011). För att uppskatta hur mycket klöverensilage en sugga måste äta för att fylla sitt energibehov används värdet för grisens OE i lucern, vilket ligger på 7,1 MJ OE per kg torrs substans (TS) enligt SLU (2013), då uppgifter på OE-innehållet i klöverensilage saknas. Suggor kan fylla upp till hälften av sitt energibehov med ensilage (Svenska Pig, 2013) vilket motsvarar ett intag mellan 4,7 och 5,7 kg TS. Dock brukar suggor utfodras med kraftfoder och då är det vanligt att tillsätta soja som proteinkälla. I Neil & Sigfridsons (2011) försök blandades 8 % soja in i kraftfodret vilket kan motsvara en normal diet för suggor i Sverige.

När gyltan är cirka 1 år får hon få sin första kull och därefter önskas nästa kull efter ca 6 månader. Brunstcykeln varar i tre veckor och suggan är dräktig i ca 114 dygn. Ungefär 35 dygn efter grisning avväjns smågrisarna i konventionell produktion (Lärn-Nilsson, 2007) och suggan kommer vanligtvis i brunst 3-7 dagar efter avvänjning och kan då insemineras (Weitze et al., 2007). Enligt KRAV:s regelverk får avvänjning ske tidigast när kulingarna är 49 dagar gamla men om man bedriver omgångsuppfödning får denna tid sänkas till 40 dagar (KRAV, 2009). Anledningen till att avvänjning vid 40 dagar är tillåten är att risken för att suggor kommer i brunst innan kulingarna är avvanda kan minska vid kortare tid. På så sätt ökar möjligheterna till att alla suggor i gruppen kommer i brunst samtidigt efter avvänjning.

## **Fysiologiska komponenter som påverkar fertilitet och dräktighet**

För att förstå hur växtöstrogener skulle kunna påverka fertiliteten hos grisar krävs förståelse för hur olika hormoner i kroppen samverkar för att ett hondjur ska ha möjligheten att bli dräktig (Figur 1).

### **Östrogen, follikelstimulerande hormon och luteiniserande hormon**

Östrogen är en grupp hormoner som hämmar utsöndringen av follikelstimulerande hormon (FSH). FSH stimulerar tillväxt av äggceller i äggstockarna och bidrar till ägglossning. Östrogen kan även ha både stimulerande och hämmande effekt på utsöndring av luteiniserande hormon (LH), beroende på hur hög östrogenhalten är i blodplasman. Låg eller normal östrogenhalt i blodet medför minskad utsöndring av LH vilket resulterar i att gulkroppen tillbakabildas (Sjaastad et al., 2010a). Hos de flesta djur, gris inkluderat (van de Wiel, 1981), ökar östrogenutsöndringen drastiskt precis innan ägglossning vilket medför en ökad utsöndring av LH som då inducerar ägglossning och bevarar gulkroppen. Gulkroppen utsöndrar hormonet progesteron som upprätthåller dräktighet (Sjaastad et al., 2010a). En ökad östradiolhalt i blodplasman hos gris medför brunst, svullen vulva, rastlöshet och ridning (Norrby, 2010). Östrogen spelar alltså en viktig roll i brunstcykeln i och med dess påverkan på LH och FSH. En rubbning av östrogenhalten ger därför konsekvenser även för de hormoner som regleras av östrogen.

### **Progesteron, prostaglandin $F_{2\alpha}$ och oxytocin**

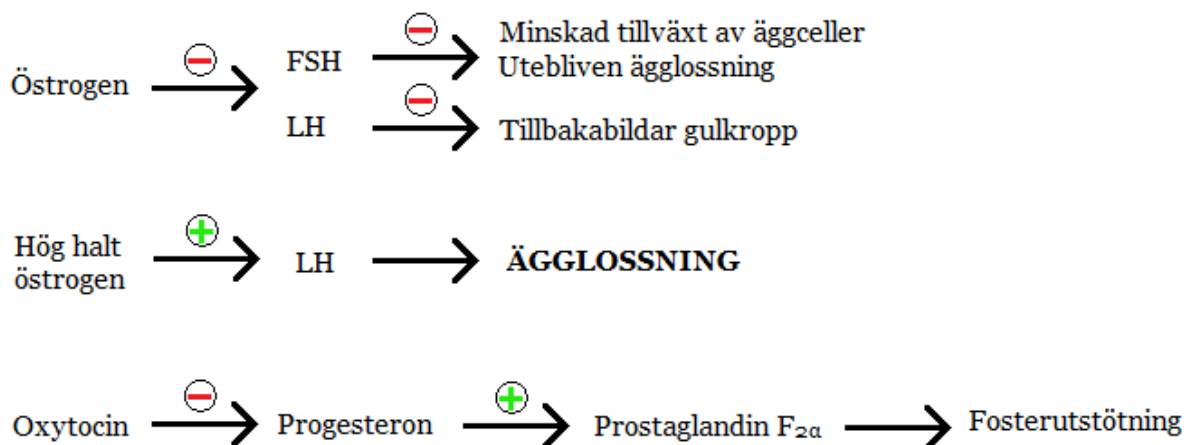
Hormonet progesteron utsöndras bland annat av gulkroppen i äggstocken och har en dräktighetsbevarande effekt. Progesteronutsöndring hämmas av en ökad halt av hormonet oxytocin vilket gör att prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) utsöndras när ett obefruktat ägg när

livmodern. Det leder till att ägget stöts ut ur livmodern och en ny brunstcykel startar. Om hormonutsöndringen rubbas, t.ex. vid stress eller intag av hormonstörande ämnen, kan  $\text{PGF}_{2\alpha}$  utsöndras trots att ägget är befruktat vilket leder till kastning. Oxytocin har, utöver reglerandet av progesteronhalten i blodet, en viktig roll vid födsel samt vid tillbakabildandet av gulkroppen vilket möjliggör för ny brunst. Oxytocin har även en påverkan vid digivning då den triggjar mjölknedsläpp i juvret (Sjaastad et al., 2010a). I en studie utförd av Seppälä et al. (1972) föreslogs att en förhöjd halt oxytocin i blodplasman har en betydande roll i aborterandet av foster. Detta skulle också kunna bli en följd av höjd oxytocinhalt hos dräktiga sugor och gyltor. Påståendet styrks av Diehl & Day (1974) där injicering av  $\text{PGF}_{2\alpha}$  resulterade i minskad progesteronhalt i blodplasman samt kastning av foster hos fyra av sju gyltor i tidig dräktighet.

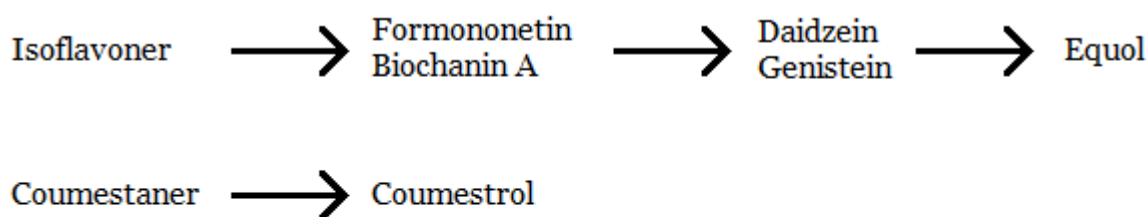
## Klöver och växtöstrogener

Klöver tillhör familjen ärtväxter och de viktigaste sorterna som används som djurfoder är rödklöver (*Trifolium pratense*), vitklöver (*T. repens*) och alsikeklöver (*T. hybridum*) (Nationalencyklopedin, 2013). Klöver används i växtodlingar på grund av dess kvävefixerande egenskaper då de lever i symbios med kvävefixerande bakterier. De är även protein- och mineralrika i jämförelse med gräs vilket gör klöver till ett bra fodermedel rent näringsmässigt. De klöversorter som används mest i Europa är vit- och rödklöver. (McDonald et al., 2011). I ekologisk produktion är det av större vikt att använda sig av klöver i vallen då man inte får gödsla med handelsgödsel (Statens jordbruksverk, 2013).

De flesta ärtväxter innehåller ämnen som har östrogen effekt, så kallade växtöstrogener, vilka kan delas in i tre olika kategorier: isoflavoner, coumestaner och lignaner. Isoflavoner är de växtöstrogener som förekommer i högst halt i de flesta klöversorter som används i vallodling. Naturliga isoflavoner har en svag östrogen effekt men hos idisslare konverteras de till föreningar med mycket högre östrogen effekt i våmmen (McDonald et al., 2011). De vanligast förekommande isoflavonerna i klöver är genistein, daidzein, formonetin, biochanin A och den förekommande coumestanen är coumestrol (Ososki & Kennelly, 2003).



**Figur 1:** Schematisk figur över hur de olika hormonerna påverkar varandra och dess effekter på reproduktion (Illustration av Rebecka Jönsson efter Sjaastad et al. 2010a)



## Lignaner

**Figur 2:** Schematisk figur som visar de växtöstrogener som finns i rödklöver och hur de bryts ner (Illustration av Rebecka Jönsson efter Setchell & Cassidy (1999) och Joannou et al. (1995).

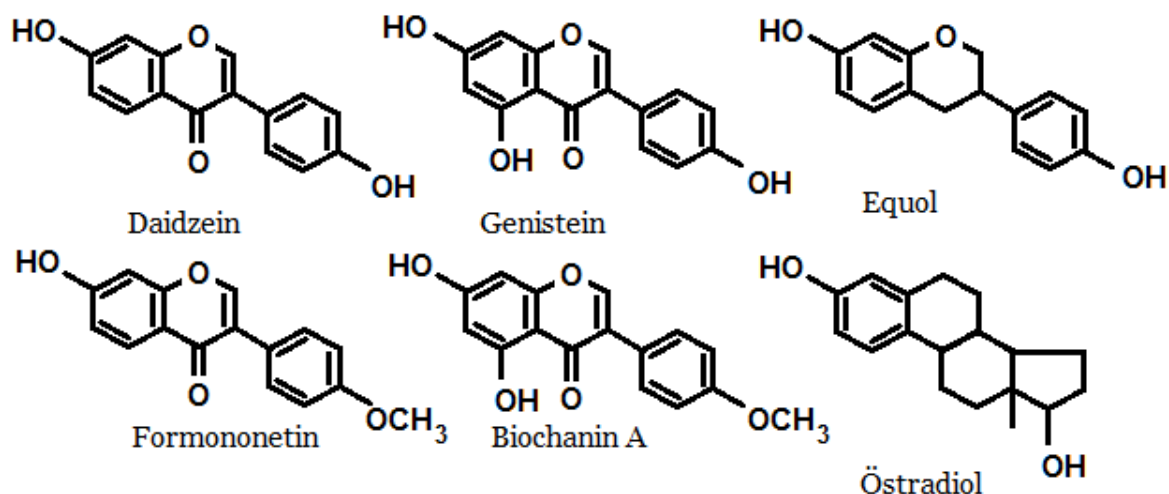
Av de vallklöversorter som används mest i Europa innehåller rödklöver högst halt isoflavoner (Vetter, 1995; Wu et al., 2003; Sivesind & Seguin, 2005; Tsao et al., 2006) och det är bladen som är rikast på isoflavoner (Sivesind & Seguin, 2005; Tsao et al., 2006). Proportionerna har dock varierat i de rapporterade försöken eftersom man har använt olika metoder för att få fram mängden isoflavoner ur klöver. Saloniemi et al. (1995) mätte att halten växtöstrogener i rödklöver utgör mellan 1 % och 2,5 % av TS. Det har även visat sig att de isoflavoner som förekommer i högst halt är biochanin A och formononetin (Saloniemi et al., 1995; Tsao et al., 2006).

Isoflavonmängden kan variera beroende på vilket stadie rödklövern befinner sig i när man skördar och lagringsmetod. Tsao et al. (2006) såg att den totala mängden isoflavoner är högre efter blomning än innan blomning. Sarelli et al. (2003) såg att torkad klöver hade lägre halt växtöstrogener än nyslagen klöver medan ensilerad hade högre halt än både torkad och nyslagen klöver. Den faktor som har störst betydelse för isoflavonhalten är vilken sorts rödklöver man väljer att så in i sin vall, vilket också är det som är lättast att påverka (Sivesind & Seguin, 2005).

**Tabell 1:** En jämförelse mellan övriga klöver, rödklöver och soja och deras isoflavoninnehåll (Mazur et al., 1998)

	Formononetin µg/100 g	Biochanin A µg/100 g	Daidzein µg/100 g	Genistein µg/100 g
Rödklöver <i>Trifolium pratense</i>	22 300	20 400	12 200	4 010
Övriga klöver <i>Trifolium spp.</i>	1 270	381	178	323
Soja * <i>Glycine max</i>	74,78	7,43	33 250	47 900

\* Ett medelvärde har tagits från Mazur et al. (1998) från de fyra sojasorter som använts i försöket.



**Figur 3:** De kemiska strukturerna på de vanligast förekommande växtöstrogenerna i klöver samt deras metabolit equol och det endogena hormonet östradiol. (Illustration av Rebecka Jönsson efter Mazur et al., 1998 & Ososki, 2003)

Både biochanin A och formononetin metaboliseras till daidzein och genistein hos människor och djur vilket har sammanfattats av Setchell & Cassidy (1999). Daidzein och genistein kan i sin tur metaboliseras till equol (Figur 2; Joannou et al., 1995). Djurens förmåga att bryta ner isoflavonerna så långt som till equol beror helt på mikroberna i våm- eller tarmfloran (Bowey et al., 2003). Även vitklöver och alsikeklöver innehåller växtöstrogen men med betydligt lägre halter än i rödklöver (Wu et al., 2003). Växtöstrogen liknar det kroppsegna hormonet östradiol, som är ett östrogen hormon, i sin kemiska struktur. Hur stor inverkan växtöstrogen har på djuret beror på hur lika metaboliterna är östradiol (Figur 3), förutom djurets egen förmåga att metabolisera växtöstrogenet (Adams, 1995).

## Växtöstrogens inverkan på reproduktionen hos lantbrukets djur

Redan år 1946 dokumenterade Bennetts et al. att antal lamningar sjönk och framfall ökade hos tackor när de ätit grävlöver, (*Trifolium subterraneum*) som innehåller höga halter växtöstrogen. Adler & Trainin (1960) såg att växtöstrogen har en östrogen effekt i form av juverutveckling, svullen vulva och förstörd livmoder hos nötkreatur. Kallela et al. (1984) dokumenterade att nötkreatur som betat på klövervall, i detta fall rödklöver, hade försämrad fertilitet. Växtöstrogen har även visat sig överföras till mjölken hos mjölkkor som har intagit stor mängd ärtväxter (Andersen et al., 2009) och att halten isoflavoner i mjölken är högre hos kor som utfodrats rödklöver än de som utfodrats vitklöver (Andersen et al., 2009; Steinshamn et al., 2008).

Trots att det finns en rad rapporter angående reproduktionsstörningar hos idisslare går det inte att direkt jämföra resultaten med gris eftersom grisens mag- och tarmkanal skiljer sig från idisslarnas. Hos idisslare sker mikrobiell nedbrytning av födoämnen redan i våmmen för att sedan föras vidare till övriga magar och slutligen tas upp i blodet i tunntarmen. Hos enkelmagade djur, såsom gris, sker den mikrobiella nedbrytningen först i grovtarmen vilket betyder att födoämnen redan har passerat magen och tunntarmen innan de når mikroberna. Grisen är därför mer jämförbar med andra enkelmagade djur såsom råttor, marsvin och människor då tjocktarmen inte är lika effektiv som tunntarmen på att absorbera näringsämnen till blodet. Det resulterar i minskat upptag av mikrobiellt nedbrutna födoämnen (Sjaastad et al., 2010b), växtöstrogen inkluderat.



Antalet studier som utförts på grisens intag av växtöstrogener från klöver är ytterst begränsad men många studier har dock utförts på isoflavoner i soja. Soja innehåller främst höga halter av daidzein och genistein, dvs. metaboliter av formononetin och biochanin A. Då klöver innehåller höga halter av formononetin och biochanin A, och mindre daidzein och genistein än soja (Tabell 1; Mazur et al., 1998), skulle det krävas en nedbrytning i mag- och tarmkanalen för att få liknande östrogen effekt som soja. Dock kan studier på soja och dess isoflavoner användas som en indikator på en eventuell östrogen effekt även för intag av klöver, även om proportionerna av de intagna isoflavonerna skiljer sig. Suggor som enbart äter klöverensilage för att uppfylla energibehovet förväntas få i sig mindre genistein och daidzein än suggor som äter kraftfoder med 8 % soja (Tabell 2).

### **Daidzein och genisteins östrogena inverkan på gris**

Det har rapporterats att olika växtöstrogener har olika östrogena effekter på gris. Ren et al. (2001) utfodrade högdräktiga suggor med 8 mg daidzein/kg foder och det visade sig ha effekt på kulingarnas vävnader, minskat uttryck från östrogenreceptorn ER $\beta$  i hypothalamus samt ökad tillväxt av fostren. Hankulingar hade högre födelsevikt än kontrollgruppen och antalet levandefödda grisar var högre i den grupp som fått daidzein (Ren et al., 2001).

Galeati et al. (2010) lät oocyter (könsceller från hongrisar) mogna *in vitro* utan daidzein, tillsammans med daidzein eller med spermiehuvuden tillsammans med daidzein. Resultaten visade inte någon förändring på antal mognande oocyter, antal befruktade oocyter i närvaro av spermiehuvuden eller antal oocyter som blivit befruktade och utvecklats till blastocyst. Däremot minskade utsöndringen av prostaglandiner från specialiserade granulosaaceller i närvaro av daidzein medan ingen signifikant skillnad på östradiol-utsöndringen sågs.

Tiemann et al. (2007) utförde *in vitro*-försök där progesteronutsöndringen mättes hos granulosaaceller från gris som inkuberades i närvaro med daidzein eller genistein. Progesteronhalten minskade i båda fallen vilket stämde överens med resultat från försök utförda av Nynca & Ciereszko (2006), Nynca et al. (2013a) och Nynca et al. (2013b). Resultaten pekar på att genistein och daidzein kan ha en effekt på folliklarna i äggstockarna, men på vilket sätt de påverkar är oklart. I försöket utfört av Nynca et al. (2013b) studerade man även hur tillsatt östradiol påverkar progesteronutsöndringen och det visade sig ha en triggnande effekt, medan daidzein verkade dämpande på progesteronutsöndringen.

Gyltor som utfodrats med genistein, motsvarande den mängd de vanligtvis får i sig i en sojabaserad foderstat, hade en förhöjd oxytocinhalt i blodplasman under inseminering. Halten prostaglandin E<sub>2</sub>, som påverkar livmoderkontraktioner, var förhöjd före, under och efter inseminering. Även halten PG<sub>F2</sub> var förhöjd efter inseminering och man såg även en tendens på en sänkning av den basala LH-nivån i blodplasman (Norrby et al., 2011). Resultatet visar på en hormonell förändring vid intag av genistein men det är oklart huruvida förändringarna har en negativ eller positiv påverkan på fruktsamheten. Clapper & Tomlin (2012) utförde ett försök där man kollade på genisteins inverkan vid intag under en längre period vilket visade på att större mängder genistein i blodplasman kan resultera i förhöjd halt LH i blodet och dess receptorer i hypofysen. Även här visar resultatet på att genistein kan förändra hormonbalansen och att intag av genistein under en längre period höjer LH-halten i blodplasman.

**Tabell 2:** Uppskattade mängder isoflavoner en sugga intar vid fodring med soja eller klöverensilage

	Formononetin mg/dygn	Biochanin A mg/dygn	Daidzein mg/dygn	Genistein mg/dygn
Rödklöver * <i>Trifolium pratense</i>	278	256	152	50
Soja ** <i>Glycine max</i>	0,3	0,03	133	192

\* Värdena baseras på intag av 10 kg TS ensilage per dag med 12,5 % klöverinblandning, vilket är ett medelvärde baserat på klöverinblandningen i Lantmännens vallfrösoriment (Lantmännen, 2013). Värdena baseras även på de isoflavonhalter som redovisas i *Tabell 1* (Mazur et al., 1998) samt att suggan har ett energibehov på 71 MJ OE per dygn där hälften kan tillgodoses med ensilage.

\*\* Värdena baseras på intag av 5 kg TS kraftfoder med 8 % sojainblandning (Neil & Sigfridson, 2011) samt de isoflavonhalter som redovisas i *Tabell 1* (Mazur et al., 1998).

Ford et al. (2006) utförde ett försök där äggstockar från gyltor som fodrats med östradiolinblandat foder, genisteininblandat foder i fyra olika koncentrationer eller hormonfritt foder opererades bort och analyserades. Resultaten visade att gyltor som fodrats med de största koncentrationerna genistein hade förstörade könsorgan. Man såg även cellulär förändring i livmoderkörtlarna vid den högsta koncentrationen genistein och att antalet progesteronreceptorer hade ökat. Ingen av de genisteininblandade fodren visade lika hög östrogen effekt som hos de gyltor som utfodrats med östradiol. Vilken inverkan resultatet har på reproduktion och fruktsamhet är ännu oklart.

## Equol

Även om det till stor del är daidzein och genistein som har undersökts lade Shutt & Braden (1968) fram teorin om att det troligtvis är equol som är den metabolit som är av störst vikt vad gäller östrogen aktivitet. Equol klassas inte som en växtöstrogen eftersom den inte förekommer naturligt i växten utan är en metabolit av växtöstrogener som, enligt försök på råttor, enbart kan produceras av tarmens bakterieflora (Bowey et al., 2003). Man har identifierat en rad olika bakteriearter som kan bryta ner och/eller omvandla daidzein till andra föreningar hos människor och råttor (Hur et al., 2000; Hur et al., 2002; Schoefer et al., 2002; Tamura et al., 2007) och man har även hittat en stam tarmlevande bakterier i råttor som kan omvandla daidzein till equol (Minamida et al., 2006).

Det finns två former av equol som produceras i tarmen, R-equol och S-equol. S-equol är den form som har störst bindningsförmåga till östrogenreceptorer. R-equol är relativt inaktiv (Setchell et al., 2005). In vitro-försök på träck från gris har visat sig innehålla equolproducerande bakteriestammar men det är oklart vilka specifika bakterier som är inblandade i produktionen eller vilken form av equol som produceras (Yu et al., 2008)

I ett försök där grisar fått foder innehållandes sojaprotein visade resultaten på hög halt genistein och daidzein i urinen, varav genistein förekom i högst halt. Equolhalten i urinen var låg. I blodplasman var genistein och daidzein högst men variationen var stor mellan grisarna i försöket. Ingen equol detekterades i blodet vilket kan tyda på att grisar inte omvandlar daidzein till equol i större utsträckning (Gu, 2006). Walsh (2006) kom i sin avhandling fram till att isoflavoner som intas i samband med en protein- och fettrik diet har större förmåga att absorberas i tunntarmen eftersom det triggar utsöndring av galla från levern.

## Diskussion

Då det inte finns någon forskning rapporterad angående hur suggors reproduktion påverkas vid intag av klöverensilage går det i dagsläget inte att sätta en gräns på hur mycket klöver man bör ha i ensilaget eller hur mycket man ska utfodra. Det är dock vedertaget att klöver innehåller östrogena substanser och det är ett faktum man bör ta i beaktning på grund av den bristande forskningen inom området. De växtöstrogener som förekommer i störst mängd i klöver är inte lika aktiva som de växtöstrogener som dominerar i soja (Mazur, 1998; Setchell & Cassidy, 1999; McDonald et al., 2011). Utfodring med soja bör vara en större riskfaktor för reproduktionsstörningar än utfodring med klöver. Forskningen är även bristande på i vilken utsträckning de dominerande växtöstrogenerna i klöver, formononetin och biochanin A, bryts ner hos gris till de mer aktiva substanserna daidzein och genisten. Nöt och får är känsliga för daidzein och genistein, troligtvis eftersom mikroberna i våmmen bryter ner dem till equol (Joannou et al., 1995), vilken är ytterligare mer östrogen än övriga metaboliter (Shutt & Braden, 1968). Då det är oklart hur stor mängd formononetin och biochanin A som bryts ner till daidzein och genistein är det också oklart hur mycket av de sistnämnda som bryts ner till equol i gris. Gus (2006) försök visade att grisen hade liten förmåga att omvandla daidzein till equol och det kan bero på grisens tarmflora eller att tjocktarmen inte absorberar equol. Yu et al. (2008) visade dock att tarmfloran hos gris kan innehålla equolproducerande bakteriestammar men även här spelar det roll vilken form av equol det är som bildas. S-equol har stor bindningsförmåga till östrogenreceptorer medan R-equol är relativt inaktiv enligt Setchell et al. (2005). Vilken form av equol som bildas i gristarmen är oklart.

Många av de försök som har utförts på daidzein och genistein hos gris har baserats på isoflavonnivåer motsvarande vad grisarna får i sig vid en sojabaserad diet (Ren et al., 2001; Ford et al., 2006; Norrby et al., 2011; Clapper & Tomlin, 2012). Man bör därför inte utgå från att den östrogena effekten vid intag av klöverensilage blir densamma som vid en sojabaserad foderstat. Norrby (2010) beskrev hur östradiol påverkar grisen och om isoflavoner har en östrogen verkan borde liknande effekter komma i uttryck efter intag av dem. De tecken han såg hos grisar med en hög östradiolhalt är brunst, svullen vulva, rastlöshet och ridning. Inga av tecknen har rapporterats i litteraturen efter intag av isoflavoner.

De risker som finns vid ett intag av växtöstrogener är förändrat uttryck från östrogenreceptorerna, minskad utsöndring av progesteron men ökat antal progesteronreceptorer, ökad utsöndring av prostaglandiner, ökad tillväxt av genitalier hos hondjur samt cellulär förändring i livmoderskörtlarna. Exakt hur nämnda förändringar kommer i uttryck framgår inte av den genomgångna litteraturen men det skulle kunna tänkas att ökad utsöndring av prostaglandiner är negativt hos dräktiga suggor medan det skulle kunna inducera brunst och ägglossning hos suggor som inte är dräktiga.

Det bör nämnas att även positiva effekter av daidzein har rapporterats. Ren et al. (2001) såg att daidzein har påverkat fostren positivt i form av högre födelsevikt hos hankulingar och ökat antal levandefödda kulingar. Med mer forskning på området skulle man eventuellt kunna utfodra på ett sätt som gör att växtöstrogenernas positiva egenskaper utnyttjas.

Med tanke på bristande kunskap kring rödklövers östrogena inverkan bör utfodring av rödklöver fortsättningsvis ske med försiktighet. Det finns åtgärder man kan vidta för att minska halten växtöstrogener i rödklövern. Det lättaste sättet är att inte så in klöver i vallen alls men med tanke på klöverns positiva egenskaper är det inte att föredra. Man kan istället välja att så in en förädlad rödklöversort som innehåller lägre mängd isoflavoner eller att skörda innan klöverns blommar. Även vid lagring kan man till viss del påverka

växtöstrogenhalten genom att låta vallen torka innan den lagras, problemet kvarstår dock att detta inte är möjligt vid regniga somrar.

Förutom åtgärder som sker ute i fält eller vid lagring kan man genom fodring påverka mängden växtöstrogen som intas av suggor. En diet som inte triggar utsöndring av galla, dvs. foder som inte innehåller större mängder fett, kan minska upptaget av isoflavoner i blodet (Walsh, 2006). Soja innehåller dock högre andel daidzein och genistein än klöver kan det vara en idé att inte utfodra med soja samtidigt som klöverensilage används som strömedel för att minska suggornas intag av växtöstrogen.

## Slutsats

Genomgången litteratur säkerställer inte att klövern växtöstrogen har några negativa effekter på suggors reproduktion, men den säkerställer inte heller det motsatta. Just på grund av den bristande forskningen bör utfodring av klöver till suggor ske med viss försiktighet, i synnerhet i kombination med andra fodermedel som innehåller växtöstrogen. Dock tyder litteraturen på att växtöstrogenernas inverkan på reproduktion och fertilitet inte är så stor som man tidigare befarat och det verkar även finnas en rad positiva aspekter att ta hänsyn till. Mer forskning krävs om hur klövern isoflavoner påverkar fertiliteten hos suggor. Tills vidare kan åtgärder vidtas som sänker växtöstrogenhalten i klövern för att minska risken för reproduktionsstörningar.

## Referenser

- Adams, N.R. 1995. Detection of the Effects of Phytoestrogens on Sheep and Cattle. *Journal of Animal Science* 73, 1509-1515.
- Adler, J.H., Trainin, D. 1960. A hyperestrogenic syndrome in cattle. *Australian Veterinary Journal* 38, 476-477. Refererad av: Adams, N.R. 1995. Detection of the Effects of Phytoestrogens on Sheep and Cattle. *Journal of Animal Science* 73, 1509-1515.
- Andersen, C., Nielsen, T.S., Purup, S., Kristensen, T., Eriksen, J., Søgaard, K., Sørensen, J., Fretté, X.C. 2009. Phyto-oestrogens in herbage and milk from cows grazing white clover, red clover, lucerne or chicory-rich pastures. *Animal* 3, 1189-1195.
- Bansal, P.B. 2007. *Structure and Functions of White Clover Root Systems*. Delhi: Global Media.
- 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, 2-12. Refererad av: Adams, N.R. 1995. Detection of the Effects of Phytoestrogens on Sheep and Cattle. *Journal of Animal Science* 73, 1509-1515.
- Bowey, E., Adlercreutz, H., Rowland, I. 2003. Metabolism of isoflavones and lignans by the gut microflora: a study in germ-free and human flora associated rats. *Food and Chemical Toxicology* 41, 631-636.
- Clapper, J., Tomlin, A. 2012. Effects of the phytoestrogen genistein on the porcine anterior pituitary insulin-like growth factor system. *Domestic Animal Endocrinology* 42, 173-182.
- Diehl, J.R., Day, B.N. 1974. Effect of Prostaglandin F<sub>2α</sub> on Luteal Function in Swine. *Journal of Animal Science* 39, 392-396.
- Ewing, K. 2007a. Suggor och galtar. Ingår i: *Naturbrukets Husdjur del 2* (red. Lärn-Nilsson, J.), 334-348. Natur & Kultur, Stockholm.
- Ewing, K. 2007b. Grisskötsel. Ingår i: *Naturbrukets Husdjur del 2* (red. Lärn-Nilsson, J.), 373-383. Natur & Kultur, Stockholm.

- Ford, J.A. Jr., 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, 834-842.
- Galeati, G., Vallorani, C., Bucci, D., Bernardini, C., Tamanini, C., Parmeggiani, A., Spinaci, M. 2010. Daidzein does affect progesterone secretion by pig cumulus cells but it does not impair oocytes IVM. *Theriogenology* 74, 451-457.
- 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, 1215-1221.
- Hur, H-G., Lay, J.O. Jr., Beger, R.D., Freeman, J.P., Rafii, F. 2000. Isolation of human intestinal bacteria metabolizing the natural isoflavone glycosides daidzin and genistin. *Arch Microbiol* 174, 422-428.
- Hur, H-G., Beger, R.D., Heinze, T.M., Lay, J.O. Jr., Freeman, J.P., Dore, J., Rafii, F. 2002. Isolation of an anaerobic intestinal bacterium capable of cleaving the C-ring of the isoflavonoid daidzein. *Arch Microbiol* 178, 8-12.
- Joannou, G.E., Kelly, G.E., Reeder, A.Y., Waring, M., Nelson, C. 1995. A Urinary Profile Study of Dietary Phytoestrogens. The Identification and Mode of Metabolism of New Isoflavonoids. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 54, 167-184.
- Kallela, K., Heinonen, K., Saloniemi, H. 1984. Plant oestrogens: the cause of decreased fertility in cows. A case report. *Nordisk Veterinärmedicin* 36, 124-129. Refererad av: Adams, N.R. 1995. Detection of the Effects of Phytoestrogens on Sheep and Cattle. *Journal of Animal Science* 73, 1509-1515.
- KRAV. December 2009. Mjölkkuppfödda djur. <http://www.krav.se/KravsRegler/5/9/>
- KRAV. 2013. Djurhållning. <http://www.krav.se/KravsRegler/5/>
- Lantmännen. 2013. Blandvall. [https://c4produktkatalog.lantmannen.se/index.php/component/virtuemart/?page=shop.browse&category\\_id=479323](https://c4produktkatalog.lantmannen.se/index.php/component/virtuemart/?page=shop.browse&category_id=479323)
- Le Goff, G., van Milgen, J., Noblet, J. 2002. Influence of dietary fibre on digestive utilization and rate of passage in growing pigs, finishing pigs and adult sows. *Animal Science* 74, 503-515.
- Lärn-Nilsson, J. 2007. Husdjur. Ingår i: *Naturbrukets Husdjur del 1* (red. Lärn-Nilsson, J.), 12-13. Natur & Kultur, Stockholm.
- Mazur, W.M., Duke, J.A., Wähälä, K., Rasku, S., Adlercreutz, H. 1998. Isoflavones and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in humans. *Nutritional Biochemistry* 9, 193-200.
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G. 2011. Grass and forage crops. In: *Animal Nutrition*, 481-498. Pearson Education Limited, Essex, England.
- Minamida, K., Tanaka, M., Abe, A., Sone, T., Tomita, F., Hara, H., Asano, K. 2006. Production of equol from daidzein by gram-positive rod-shaped bacterium isolated from rat intestine. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 102, 247-250.
- Nationalencyklopedin (NE). Mars 2013. [http://www.ne.se/lang/kl%C3%B6vrar?i\\_h\\_word=kl%C3%B6ver#](http://www.ne.se/lang/kl%C3%B6vrar?i_h_word=kl%C3%B6ver#)
- Neil, M., Sigfridson, K. 2011. Vitblommig åkerböna (*Vicia faba L.*) i fodret till sugor – preliminära resultat. [http://www.slu.se/Documents/externwebben/centrumbildningar-projekt/epok/Presentationer/Grisseminarium%202011-11-08/Maria\\_Neil\\_Akerbona.pdf](http://www.slu.se/Documents/externwebben/centrumbildningar-projekt/epok/Presentationer/Grisseminarium%202011-11-08/Maria_Neil_Akerbona.pdf)
- Noblet, J., Shi, X.S., Dubois, S. 1993. Metabolic utilization of dietary energy and nutrients for maintenance energy-requirements in sows - basis for a net energy system. *British Journal of Nutrition* 70, 407-419.
- Norrby, M. 2010. Hormones and Sex Steroid Receptors in the Female Pig. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*, vol 2010:71.

- Norrby, M., Madsen, M.T., Saravia, F., Lundeheim, N., Madej, A. 2011. Genistein Alters the Release of Oxytocin, Prostaglandins, Cortisol and LH during Insemination in Gilts. *Reproduction in Domestic Animals* 46, 316-324.
- Nynca, A., Ciereszko, R.E. 2006. Effect of genistein on steroidogenic response of granulosa cell populations from porcine preovulatory follicles. *Reproductive Biology* 6, 31-50.
- Nynca, A., Nynca, J., Wasowska, B., Kolesarova, A., Kolomycka, A., Ciereszko, R.E. 2013a. Effects of the phytoestrogen, genistein, and protein tyrosine kinase inhibitor-dependent mechanisms on steroidogenesis and estrogen receptor expression in porcine granulosa cells of medium follicles. *Domestic Animal Endocrinology* 44, 10-18.
- Nynca, A., Slonina, D., Jablonska, O., Kaminska, B., Ciereszko, R.E. 2013b. Daidzein affects steroidogenesis and oestrogen receptor expressions in medium ovarian follicles of pigs. *Acta Veterinaria Hungarica* 61, 85-98.
- Ososki, A.L., Kennelly, E.J. 2003. Phytoestrogens: a Review of the Present State of Research. *Phytotherapy Research* 17, 845-869.
- 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. *Journal of Endocrinology* 170, 129-135.
- Saloniemi, H., Wahala, K., Nykanenkurki, P., Kallela, K., Saastamoinen, I. 1995. Phytoestrogen content and estrogenic effect of legume fodder. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 208, 13-17.
- Sarelli, L., Tuori, M., Saastamoinen, I., Syrjälä-Qvist, L., Saloniemi, H. 2003. Phytoestrogen Content of Birdsfoot Trefoil and Red Clover: Effects of Growth Stage and Ensiling Method. *Acta Agriculturae Scandinavica* 53, 58-63.
- Schoefer, L., Mohan, R., Braune, A., Birringer, M., Blaut, M. 2002. Anaerobic C-ring cleavage of genistein and daidzein by *Eubacterium ramulus*. *FEMS Microbiology Letters* 208, 197-202.
- Seppälä, M., Kajanoja, P., Widholm, O., Vara, P. 1972. Prostaglandin-oxytocin abortion: A clinical trial on intra-amniotic prostaglandin F<sub>2α</sub> in combination with intravenous oxytocin. *Prostaglandins* 2, 311-319.
- Setchell, K.D.R., Cassidy, A. 1999. Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. *The Journal of Nutrition* 129, 7585-7675.
- Setchell, K.D.R., Clerici, C., Lephart, E.D., Cole, S.J., Heenan, C., Castellani, D., Wolfe, B.E., Nechemias-Zimmer, L., Brown, N.M., Lund, T.D., Handa, R.J., Heubi, J.E. 2005. S-Equol, a potent ligand for estrogen receptor β, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81, 1072-1079.
- Shutt, D.A., Braden, A.W.H. 1968. The significance of equol in relation to the oestrogenic responses in sheep ingesting clover with a high formononetin content. *Australian Journal of Agricultural Research* 19, 545-553.
- Sivesind, E., Seguin, P. 2005. Effects of the Environment, Cultivar, Maturity, and Preservation Method on Red Clover Isoflavone Concentration. *Journal of Agricultural Chemistry* 53, 6397-6402.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K. 2010a. Reproduction. In: *Physiology of Domestic Animals*, 683-734. Scandinavian Veterinary Press, Oslo, Norge.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K. 2010b. The Digestive System. In: *Physiology of Domestic Animals*, 533-618. Scandinavian Veterinary Press, Oslo, Norge.
- SLU. 2011. Näringsrekommendationer ver. 2011.1. [http://www.slu.se/PageFiles/23915/Naringsrekommendation\\_Energi\\_2011\\_1.pdf](http://www.slu.se/PageFiles/23915/Naringsrekommendation_Energi_2011_1.pdf)
- SLU. 2013. Fodertabell för gris. <http://www.slu.se/sv/fakulteter/vh/institutioner/institutionen-for-husdjurens-utfodring-och-varld/verktyg/fodertabeller/fodertabell-for-gris/>

- Statens Jordbruksverk. 2010:15. Statens jordbruksverks författningssamling, nr L 100. Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd om djurhållning inom lantbruket m.m., kap 3: Särskilda bestämmelser för grisar.
- Statens Jordbruksverk. 2011. Djurskyddsbestämmelser gris. Jönköping: Jordbruksverket (Jordbruksinformation 8-2011) [Broschyr]
- Statens Jordbruksverk. Juni 2012. Foder i ekologisk grisproduktion. <http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/miljoklimat/ekologiskproduktion/djurhallning/100procentekologiskfoder/foderiekologiskgrisproduktion.4.2399437f11fd570e6758000425.html>
- Statens Jordbruksverk. 2013. Gödselmedel för ekologisk odling. Jönköping: Jordbruksverket. [Broschyr]
- Steinshamn, H., Thuen, E. 2008. White or red clover-grass silage in organic dairy milk production: Grassland productivity and milk production responses with different levels of concentrate. *Livestock Science* 119, 202-215.
- Svenska Pig. 2013. Ensilage till sinsuggor. <http://www.svenskapig.se/ensilage-till-sinsuggon>
- Tamura, M., Tsushida, T., Shinohara, K. 2007. Isolation of an isoflavone-metabolizing, Clostridium-like bacterium, strain TM-40, from human faeces. *Anaerobe* 13, 32-35.
- Tiemann, U., Schneider, F., Vanselow, J., Tomek, W. 2007. In vitro exposure of porcine granulosa cells to the phytoestrogens genistein and daidzein: effects on the biosynthesis of reproductive steroid hormones. *Reproductive Toxicology* 24, 317-325.
- 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, 5797-5805.
- van de Wiel, D.F.M., Erkens, J., Koops, W., Vos, E., van Landeghem, A.A.J. 1981. Periestrous and Midluteal Time Courses of Circulating LH, FSH, Prolactin, Estradiol-17 $\beta$  and Progesterone in the Domestic Pig. *Biology of Reproduction* 24, 223-233.
- Vetter, J. 1995. Isoflavones in Different Parts of Common Trifolium Species. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 43, 106-108.
- Wallenbeck, A. 2013. Personlig kommentar.
- Walsh, K.R. 2006. Digestion and Intestinal Metabolism of Soy Isoflavonoids and Isoflavonoid Metabolites. Doctor of Philosophy Dissertation, Ohio State Nutrition Program, Ohio State University, Columbus 2006.
- Weitze, K.F., Wagner-Rietschel, H., Waberski, D., Richter, L., Krieter, J. 2007. The Onset of Heat after Weaning, Heat Duration, and Ovulation as Major Factors in AI Timing in Sows. *Reproduction in Domestic Animals* 29, 433-443.
- Wu, Q., Wang, M., Simon, J.E. 2003. Determination of isoflavones in red clover and related species by high-performance liquid chromatography combined with ultraviolet and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1016, 195-209.
- Yu, Z-T., Yao, W., Zhu, W-Y. 2008. Isolation and identification of equol-producing bacterial strains from cultures of pig faeces. *FEMS Microbiology Letters* 282, 73-80.