

## Effekt av konserveringsmetod för vallfoder på mikrobiell och kemisk sammansättning i tarminnehåll och faeces hos hästar

**Cecilia Müller och Peter Udén**

Kungsängens forskningscentrum, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet, 753 23 Uppsala

[Cecilia.Muller@huv.slu.se](mailto:Cecilia.Muller@huv.slu.se)

### Publikationer/resultatförmedling

På grund av det begränsade utrymmet i denna slutrapport kan en fullständig redovisning ej lämnas här. Ett manuskript innehållande alla detaljer i studien finns med i Cecilia Müllers avhandling som publiceras vid SLU i maj 2007, samt har skickats till tidskriften *Livestock Science*, Elsevier i februari 2007. Resultaten kommer även att förmedlas i svensk hästfackpress under 2007, samt via Svenska Vallföreningens Vallbrev under 2007/2008.

### **Bakgrund**

Inplastat vallfoder har de senaste åren blivit allt vanligare i hästfoderstater som ersättning för hö (Lindvall, 2000; Billysson, 2002; Holmquist and Müller, 2002). Kunskap om hur olika sätt att konservera vallfoder påverkar miljön i hästens mag-tarmkanal är dock bristfällig.

Traditionellt sett har hö varit det vanligaste vallfodret för hästar, men om hö inte produceras och lagras på rätt sätt, (dvs. torrt och luftigt), blir det snabbt förstört av mögelsvampars tillväxt (Lacey, 1989). Mögel bildar både sporer och mykotoxiner, och mögelsporer har tillsammans med termofila aktinomycceter (e.g. *Micropolyspora faeni*) en stor roll i etiologin bakom luftvägslidanden som "recurrent airway obstruction" (RAO) hos hästar (Robinson *et al.* 1996; Vandenput *et al.*, 1998). Vallfoder med mindre mängd mögelsporer eller lägre antal respirabla partiklar än hö är därför av intresse för hästutfodring (Vandenput *et al.*, 1997; Raymond *et al.*, 1997). Vandenput *et al.* (1997) påvisade att även hö av god hygienisk kvalitet innehöll betydligt högre nivåer av respirabla partiklar än hösilage med hög torrsustanshalt (780 g ts/kg) eller ensilage med lägre ts-halt (500 g ts/kg). Ensilaget innehöll dessutom färre respirabla partiklar och termofila aktinomycceter än hösilaget. Ur detta perspektiv borde alltså ensilage vara ett lämpligt foder för hästar, men det finns också andra skillnader mellan hö, hösilage och ensilage.

Välfermenterat ensilage innehåller i allmänhet mer mjölksyra och flyktiga fettsyror (VFA) samt ett lägre pH och ett lägre innehåll av lättlösliga kolhydrater (WSC, innefattande glukos, fruktos, sukros och fruktaner) än hösilage och hö, eftersom WSC förjäses av mjölksyrabakterier till mjölksyra i ensilage. I hösilage begränsas fermentationen av den högre torrsustanshalten. Vilken inverkan skillnaderna i den kemiska sammansättningen i fodret har på fermentationen i hästens grovtarm har inte beskrivits i litteraturen. Studier som påvisat förändringar i mikrobiell sammansättning och fermentationsmönster i hästens grovtarm har framför allt gjorts i samband med olika typer av kolik (Reeves *et al.*, 1996), fång (Garner *et al.*, 1978; Goodson *et al.*, 1988; Rowe *et al.*, 1994), antibiotikabehandling (Kropp, 1991), förändring av utseende och struktur av faeces, dålig hårrem och försämrad prestation (Ronéus *et al.*, 1993). Även om orsak och verkan inte alltid varit tydliga i dessa studier, så har den mikrobiella profilen i faeces (Darby *et al.*, 1995) och i caecum och colon påvisats vara direkt relaterad till sammansättningen av födan, särskilt då olika proportioner av grovfoder: kraftfoder undersökts (Hintz *et al.*, 1971; Kern *et al.*, 1973; Moore and Dehority, 1992; de Fombelle *et al.*, 2001; Julliand *et al.*, 2001; Medina *et al.*, 2002). Syftet med denna studie var därför att undersöka om utfodring av hö, hösilage och ensilage, från samma vall och skörd,

påverkar den mikrobiella och kemiska sammansättningen i colon och faeces hos fistulerade hästar, och hur väl faecesprov överensstämmer med colonprov.

## Material och metoder

### *Produktion av foder*

Vallfoder skördades vid Kungsängens forskningscentrum, Uppsala under första veckan i juni 2005. Grödan kom från en permanent vall och bestod av 0.55 timotej (*Phleum pratense*), 0.30 ängssvingel (*Festuca pratensis*), 0.10 kvickrot (*Agropyron repens*) och 0.05 maskrosor (*Taraxacum vulgare*). Vallen hade under våren gödslats med 430 kg NPK 21-3-10 per hektar, vilket motsvarar 90 kg N, 12.9 kg P and 43 kg P per hektar.

Vallen slogs med slätterkross (Kverneland Taarup 4028, Kverneland, Nyköping, Sverige) och grönmassan lades så brett som möjligt (2.0 m) för att förtorkas. Vändning av grönmassan gjordes med en konventionell hövändare (Claas WaS 730, CLAAS KgaAmbH, Harsewinkel, Tyskland). Två vändningar utfördes inom 24 h efter slätter. Snabbbestämning av ts-halten gjordes genom att prover tagna slumpmässigt på fältet torkades i en mikrovågsugn tills provets vikt inte längre förändrades (10-12 minuter, 700 W). Strax efter den andra vändningen hade grödan uppnått ca 400 g ts per kg. Ungefär 1/3 av grönmassan stränglades med hjälp av en strängläggare (Krone KS 3.80-4.20 Vario, Bernard Krone Holding GmbH & Co. KG, Spelle, Tyskland). Därefter pressades ensilage (28 h efter slätter). Den resterande grödan vändes en tredje gång, varefter hälften av den slagna arealen stränglades (49 h efter slätter). Ts-halten var då ca 550 g/kg, och hösilage pressades. Den kvarvarande grönmassan vändes en fjärde gång, och knappt tre dygn efter slätter var ts-halten över 600 g/kg varpå grödan stränglades för pressning av hö. Ensilage och hösilage pressades i stora rundbalar med en press med fix balkkammare och inbyggd inplastare (Taarup Bale-in-one, Kverneland Taarup, Nyköping, Sverige). Balarna plastades in med 10 lager vit, 750 mm bred plast (Horsewrap, Trioplast, Smålandsstenar, Sverige) med 50 % överlappning och 70 % försträckning av plasten. Höet löspressades i små fyrkantsbalar med en konventionell glidkolvspress (balstorlek 80x46x38 cm, Claas Markant 51, CLAAS KgaAmbH, Harsewinkel, Tyskland) och lades in på en planbottentork. Torkningen pågick tills ts-halten var över 840 g/kg och vattenaktiviteten ( $a_w$ ) under 0.70 (mätt vid konstant rumstemperatur, 21°C) med en hygrometer (Lufft Duratherm Kontroll hygrometer 5804, Tyskland) som kalibrerades med mättad  $BaCl_2 \cdot 2 H_2O$  innan varje mätning. Efter 5 månaders lagring på torken flyttades höet till en lada och skyddades där mot fuktig luft genom att höet placerades på pall och täcktes in med halmbalar.

Ensilage och hösilaget inokulerades vid pressningen med ett biologiskt ensileringsmedel (Lactisil Horse Plus, Medipharm, Kågeröd, Sverige), som bestod av frystorkade mjölksyrabakterier (*Lactobacillus plantarum* NCIMB 30083, *Enterococcus faecium* NCIMB 11181, *Pediococcus acidilacti* NCIMB 30086 och *Lactococcus lactis* NCIMB 30117), cellulolytiska enzymer (Genencor Multifect CEG IUB 3.2.1.4, 54000 HEC/g koncentrat), kaliumsorbat och natriumbensoat. Ensileringsmedlet tillförde ca 200 000 kolonibildande enheter (CFU) LAB/g grönmassa,  $1.8 \times 10^{-4}$  g kaliumsorbat och  $4.2 \times 10^{-4}$  g natriumbensoat per g grönmassa för ensilaget och 200 000 CFU LAB/g grönmassa,  $1.6 \times 10^{-4}$  g kaliumsorbat och  $3.8 \times 10^{-4}$  g natriumbensoat per g grönmassa för hösilaget.

Ensilage- och hösilagebalarna transporterades från fältet till en inhägnad balgård, där de lagrades i sex månader. Därefter öppnades balarna, inspekterades okulärt och provtogs för mikrobiologisk och kemisk analys. Fodret provtogs enligt den metodik som beskrivs i Müller och Udén (2007). De öppnade balarna pressades om till små fyrkantsbalar med hjälp av en stationärt uppställd glidkolvspress (balstorlek 80 x 48 x 36 cm, Lely Welger AP 730, Lely

Maschinenfabrik GmbH, Wolfenbüttel, Tyskland), som modifierats med avseende på knyrtarfunktionen. Genom att byta ut originalknyrtarna mot knyrtare avsedda för en större fyrkantspress (Lely Welger D 4000, Lely Maschinenfabrik GmbH, Wolfenbüttel, Tyskland) kunde starkare balgarn användas (polypropylengarn, 200m/kg, Agripac, Tollerød, Sverige). Fyrkantsbalarna plastades in med tio lager 360 mm bred plast (Horsewrap, Trioplast, Smålandsstenar, Sverige) med en mini-inplastare avsedd för mindre fyrkantsbalar (Tellefsdal Miniwrap 404, Tellefsdal, Sundebru, Norge). Överlappningen mellan plastlagren var 50 % och försträckningen av plasten 70 %. I januari 2006 transporterades allt foder till Établissement National d'Enseignement Supérieur Agronomique de Dijon (ENESAD) i Dijon, Frankrike. Höet lagrades där inomhus i en lada under resten av försöksperioden och det inplastade fodret lagrades utomhus under tak, uppställda på pall.

### *Försöksupplägg*

Utfodringsförsöket lades upp som en (icke-komplett) change-over studie, bestående av en förperiod och tre försöksperioder omfattande 21 dagar vardera. Under förperioden utfodrades alla hästar med hö. I period I utfodrades två hästar med ensilage och två hästar med hösilage. Under period II utfodrades alla hästar åter med hö. I period III utfodrades de hästar som ätit ensilage i period II med hösilage, och de hästar som utfodrats med hösilage i period II med ensilage, så att alla hästar åt alla foder. Provtagning gjordes dag 21. Alla foderbyten gjordes abrupt från en dag till nästa och effekten av dessa redovisas av Jansson, A. projekt 0447016.

En kinetikstudie som följde pH-värde, ts, WSC, VFA (flyktiga fettsyror) och mjölksyra i grovtarmen genomfördes också under två på varandra följande dagar i varje period (dag 9 och 10 eller dag 16 och 17). Hästarna provtogs då före utfodring på morgonen (0h), och sedan 2, 4, 8 och 12 h efter morgongivan. Efter 12 h provtagningen utfodrades hästarna med kvällsgivan.

### *Hästar och provtagning av hästar*

Fyra hästar av varmblodstyp, vikt 475 kg (s.d. 4.4 kg) användes för provtagning av grovtarmsinnehåll och faeces. Hästarna var fistulerade i caecum och högra ventralcolon, men endast colonfisteln användes i denna studie. Hästarna var kliniskt friska och hade normal tanduppsättning. Avmaskning utfördes 15 dagar före försökets start med bimectin (Bimectine paste 6.42 g CEVA Sante Animale, Libourne Cedex, Frankrike). Hästarna hölls i individuella boxar med sågspån som strömedel, och utfodrades endast med försöksfodret samt mineraler och salt beräknat efter individuellt behov. Hästarna hade fri tillgång på vatten. Försöksfodret utfodrades vid två tillfällen per dygn, kl. 8.00 och 18.00, med den största givan (ca 60 % av totalgivan) på kvällen. Fodergivan beräknades individuellt för varje häst enligt svenska rekommendationer (Jansson *et al.*, 2004) och justerades under förperioden för att undvika upp- eller nedgång i vikt hos hästarna under försöket. Den genomsnittliga givan var 9-12 g ts vallfoder per kg kroppsvikt. Hästarna tilläts vistas utomhus en och en i en rundkorall några timmar under de dagar provtagningar inte gjordes. Det fanns ingen växtlighet i rundkorallen och hästarna hölls under uppsikt under de timmar de vistades där.

Provtagning av hästarna gjordes dag 21 i varje period, fyra timmar efter morgonutfodringen. Separata prover togs för mikrobiologisk och kemisk analys för både coloninnehåll och faeces. Prover för mikrobiologisk analys från colon togs först, vilka placerades i sterila plastburkar med skruvlock och förvarades i ca 30°C under max 2 h tills inokulering gjordes. Därefter togs ett nytt colonprov för direkt pH-mätning (WTW pH 340 i pocket pH- meter, Wissenschaftlich Technische Werkstätten, Weilheim, Tyskland). Provet filtrerades sedan (Blutex 100 µm) och vätskan samlades upp i scintigrafiburkar som

omedelbart placerades i frys (-18°C). Tarmvätskan användes senare för analys av VFA, mjölksyra och WSC. Ett tredje prov på coloninnehållet togs sedan för bestämning av ts-halten. Prover på faeces togs rektalt och behandlades på samma sätt som kolonproverna. pH-värdet mättes direkt på vätska som pressades ur provet med en potatispress.

Provtagning under kinetikstudien gjordes enbart på coloninnehåll. Proverna togs på samma sätt som beskrivits tidigare, med undantag av att inga prover för mikrobiologisk analys inkluderades.

### *Analys*

Prover från grönmassa och foder analyserades kemiskt enligt metoder beskrivna av Müller & Udén (2007). Dessutom analyserades mineraler (Ca, P, Mg) med ICP-OES metodik (SS-EN 14538:2006), och sur detergentfiber exklusive aska ( $ADF_{om}$ ) bestämdes enligt AOAC (1990; Index no. 973.18). Lignin analyserades med permanganatmetoden enligt Robertson och Van Soest (1981).

Prover från colon och faeces tinades i kallt vattenbad under 2 h innan analys av VFA och mjölksyra gjordes med HPLC (Andersson & Hedlund, 1983). Koncentrationen av glukos, fruktos, sukros och fruktaner i tarmvätskeproverna bestämdes enligt Larsson & Bengtsson (1983). Prover på coloninnehåll och faeces torkades i 55°C under 48 h för bestämning av ts.

Mikrobiologiska analyser på grönmassa och foder utfördes enligt metoder beskrivna av Müller & Udén (2007), och på coloninnehåll och faeces enligt metoder beskrivna i deFombelle *et al.* (2003).

### *Statistisk bearbetning*

Variansanalys utfördes med hjälp av General Linear Models Procedure i SAS för Windows package 9.1 (2001, SAS Institute, SAS Inc., USA). Följande modeller användes:

För 21-dagarsprover:

$$Y_{ij} = \mu + (\text{grönmassa/foder})_i + (\text{error})_{ij}$$

$$Y_{ijk} = \mu + (\text{foder})_i + (\text{häst})_j + (\text{error})_{ijk}$$

$$Y_{ijk} = \mu + (\text{foder})_i + (\text{provtagningsplats})_j + (\text{foder} \times \text{provtagningsplats})_{ij} + (\text{error})_{ijk}$$

För kinetikstudien:

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

Värden under detektionsgränsen för den aktuella analysen transformerades till halva den lägre detektionsgränsen innan statistisk analys gjordes. Värden för mikrobiologiska analyser transformerades till  $10^{\log}$  värden efter statistisk analys och pH-värden konverterades till  $[H^+]$  före statistisk analys, eftersom logaritmerade värden inte var normalfördelade. Resultat där  $P < 0.05$  betraktades som signifikant skilda.

## **Resultat**

### *Grönmassa och foder*

Analysresultat för grönmassan redovisas ej pga. utrymmesbrist. Grönmasseproverna skilde sig åt endast i ts och fruktaninnehåll, vilka var högst respektive lägst i grönmassan för höet. De färdiga fodren skilde sig åt i större utsträckning än grönmassan (Tabell 1). Ensilage hade lägst ts-halt och pH-värde och innehöll mer fermentationsprodukter i form av mjölksyra, ättiksyra,

bärnstenssyra, totala organiska syror, etanol, 2,3-butandiol och ammoniak-N. Ensilaget hade också lägst innehåll av glukos och WSC. Innehållet av propionsyra och smörsyra understeg 0.1 g/kg ts för alla fodertyper. Hösilaget hade lägst innehåll av råprotein och smältbart råprotein, intermediär ts-halt och etanolkoncentration samt högst fruktosinnehåll. Hö hade högst ts-halt, sukroshalt, fruktanhalt och innehöll även de högsta koncentrationerna av mögel och enterobakterier. Fiberfraktionerna skilde mellan fodertyperna i NDF och lignininnehåll, vilka var lägst respektive högst i ensilaget. Även innehållet av aska, Ca och Mg var högst i ensilaget.

Tabell 1. Kemisk och mikrobiell sammansättning i försöksfodren. För de kemiska analyserna var n=8 för ensilage och hösilage, och n=6 för hö, om inte annat anges. Varje prov bestod av 2-4 delprov. För mikrobiologisk analys var n=4 för alla foder

Variabel	Ensilage	Hösilage	Hö	SEM	P
Kemisk sammansättning					
Torrsubstanshalt, g/kg	343 <sup>a</sup>	548 <sup>b</sup>	815 <sup>c</sup>	11.1	<0.0001
Aska, g/kg ts <sup>A</sup>	93 <sup>a</sup>	85 <sup>b</sup>	83 <sup>b</sup>	1.3	<0.0001
Ca, g/kg ts <sup>A</sup>	5.5 <sup>a</sup>	3.9 <sup>b</sup>	4.2 <sup>b</sup>	0.32	0.0004
P, g/kg ts <sup>A</sup>	2.9 <sup>a,b</sup>	2.4 <sup>a</sup>	3.1 <sup>b</sup>	0.19	0.03
Mg, g/kg ts	1.5 <sup>a</sup>	1.0 <sup>b</sup>	1.1 <sup>b</sup>	0.10	0.002
Råprotein, g/kg ts <sup>A</sup>	176 <sup>a</sup>	151 <sup>b</sup>	165 <sup>a</sup>	4.6	0.0004
Beräknat smältbart råprotein, g/kg ts <sup>A</sup>	134 <sup>a</sup>	111 <sup>b</sup>	123 <sup>a</sup>	4.3	0.0004
Lättlösliga kolhydrater (WSC), g/kg ts	80 <sup>a</sup>	126 <sup>b</sup>	116 <sup>b</sup>	7.0	<0.0001
Glukos, g/kg ts	31 <sup>a</sup>	49 <sup>b</sup>	42 <sup>b</sup>	3.1	0.0005
Fruktos, g/kg ts	36 <sup>a</sup>	61 <sup>b</sup>	42 <sup>a</sup>	4.4	0.0007
Sukros, g/kg ts	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	15 <sup>b</sup>	1.2	<0.0001
Fruktaner, g/kg ts	2 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	1.2	0.0003
Neutral detergent fiber (NDF), g/kg ts	421 <sup>a</sup>	468 <sup>b</sup>	486 <sup>b</sup>	6.8	<0.0001
Sur detergent fiber (ADF <sub>om</sub> ), g/kg ts	278	280	273	3.8	0.43
Lignin, g/kg ts	49 <sup>a</sup>	38 <sup>b</sup>	32 <sup>b</sup>	2.1	0.0008
<i>In vitro</i> smältbar organisk substans, g/kg ts <sup>A</sup>	905	893	895	5.2	0.19
Beräknad omsättbar energi (ME <sub>n</sub> ) MJ/kg DM <sup>A</sup>	11.6	11.6	11.6	0.07	0.90
Mjölksyra, g/kg ts	43.0 <sup>a</sup>	1.3 <sup>b</sup>	0.3 <sup>b</sup>	2.97	<0.0001
Ättiksyra, g/kg ts	4.8 <sup>a</sup>	0.8 <sup>b</sup>	0.1 <sup>b</sup>	0.30	<0.0001
Bärnstenssyra, g/kg ts	2.8 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	<0.1 <sup>b</sup>	0.20	<0.0001
Totala organiska syror, g/kg ts	50.6 <sup>a</sup>	2.6 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>	3.36	<0.0001
Proportion mjölksyra: totala organiska syror	0.85 <sup>a</sup>	0.43 <sup>b</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.079	0.001
Proportion ättiksyra: totala organiska syror	0.09 <sup>a</sup>	0.36 <sup>b</sup>	0.35 <sup>b</sup>	0.064	0.006
Proportion bärnstenssyra: totala organiska syror	0.06	0.21	0.07	0.056	0.07
Etanol, g/kg ts	9.7 <sup>a</sup>	5.9 <sup>b</sup>	<0.1 <sup>c</sup>	0.63	<0.0001
2,3-butanediol, g/kg ts	4.5 <sup>a</sup>	0.4 <sup>b</sup>	<0.1 <sup>b</sup>	0.28	<0.0001
pH <sup>B</sup>	4.40 <sup>a</sup>	5.60 <sup>b</sup>	5.96 <sup>b</sup>	3.68x10 <sup>-6</sup>	<0.0001
Ammoniak-N/total N	7.3 <sup>a</sup>	2.4 <sup>b</sup>	1.5 <sup>b</sup>	0.59	<0.0001
Mikrobiologisk sammansättning <sup>C</sup>					
Mjölksyrabakterier	7.1	4.9	<1.7	3.80x10 <sup>6</sup>	0.11
Enterobakterier	0.8 <sup>a</sup>	0.9 <sup>a</sup>	3.3 <sup>b</sup>	4.68x10 <sup>2</sup>	0.006
Klostridiesporer	<1.7	<1.7	<1.7	-	-
Jäst	3.4	3.6	<1.7	2.29x10 <sup>3</sup>	0.60
Mögel	2.0 <sup>a</sup>	<1.7	2.8 <sup>b</sup>	1.23x10 <sup>2</sup>	0.002

<sup>a, b, c</sup> Olika bokstäver inom samma rad indikerar signifikant skillnad vid det angivna P-värdet.

<sup>A</sup> n=14 för ensilage, n= 12 för hösilage, n=9 för hö.

<sup>B</sup> pH-värden är medel av [H<sup>+</sup>] transformerade till pH, medan SEM-värden är [H<sup>+</sup>].

<sup>C</sup> CFU-värden är CFU/g transformerade till <sup>10</sup>log-värden, medan SEM-värden är CFU/g.

### Prover från kolon och faeces

Utfodring med hö, hösilage eller ensilage resulterade inte i några skillnader för någon av de analyserade variablerna i colon eller faeces (P>0.21, tabell 2). Mängden mjölksyra bidrog med mindre än 0.002 till det totala innehållet av organiska syror i alla prov.

Molproportionerna för acetat:propionat:butyrat:valerat var i genomsnitt 71:20:7:2 för colonprover och 68:21:8:3 för faeces. Tabell 2 redovisar också skillnader mellan prover från colon och från faeces. Skillnader mellan provtyperna fanns för pH, innehåll av ättiksyra, propionsyra, smörsyra och totala organiska syror, vilka i faeces var ungefär 0.5-0.8 av innehållet av desamma i colon. Ts-halt och antalet laktobaciller var högre i faeces än i colonprover. Det fanns inga interaktioner mellan foderslag och provtagningsställe ( $P > 0.21$ ).

Det fanns små skillnader mellan hästarna i några av de biokemiska variablerna. I colonproverna fanns skillnader för *i*-smörsyra ( $P < 0.0001$ ), *i*-valeriansyra ( $P < 0.0025$ ) och *n*-valeriansyra ( $P < 0.0064$ ), och i faeces fanns skillnader för propionsyra ( $P < 0.0137$ ), smörsyra ( $P < 0.0189$ ) och totala organiska syror ( $P < 0.0495$ ), men dessa skillnader mellan hästarna var mycket små och bedömdes inte inverka på resultatet. Den numeriskt största skillnaden fanns för totala organiska syror i faeces (intervall 29 till 66 mM), men motsvarande skillnad fanns inte för colonproverna.

### *Kinetikstudie*

I den kinetiska studien fanns skillnader i colonprover mellan foderslag, provtagnings-tidpunkter och hästar samt interaktioner mellan hästar och provtagnings-tidpunkter liksom mellan hästar och foderslag. Skillnader i colonprover mellan foderslagen fanns för några få variabler (tabell 3). Utfodring med hö resulterade i något högre ts-halt och koncentration av *i*-valeriansyra jämfört med utfodring av ensilage och hösilage. Vid utfodring med hösilage var innehållet av totala organiska syror, ättiksyra och *n*-valeriansyra i colonprover lägst, men skillnaderna mellan foderslagen var små och molproportionerna mellan acetat:propionat:butyrat:valerat var lika mellan de olika behandlingarna (70:20:8:2 vid utfodring med ensilage och hösilage och 70:19:8:3 vid utfodring med hö). Mjölksyra bidrog med mindre än 0.001 till innehållet av totala organiska syror. Det fanns inga skillnader i colonproverna med avseende på innehåll av glukos, fruktos, sukros eller fruktaner mellan foderslagen. Skillnader mellan provtagnings-tidpunkter fanns för pH, totala organiska syror och alla individuella syror. Dessa skillnader var dock små och inget tydligt mönster kunde utläsas. Vid 0h var innehållet av smörsyra och valeriansyra något högre jämfört med övriga tidpunkter, men molproportionerna mellan acetat:propionat:butyrat:valerat var lika mellan alla tidpunkter. Det fanns också skillnader mellan individuella hästar i innehåll av ts, pH, totala organiska syror och alla individuella syror, men även här var skillnaderna små och bedömdes inte inverka på resultatet. Mjölksyra bidrog till innehållet av totala organiska syror med mindre än 0.003 för alla hästar.

Alla foderslagen uppvisade samma mönster i kolon vid de olika provtagnings-tidpunkterna, då inga interaktioner mellan foderslag och tidpunkter kunde påvisas. Interaktioner mellan hästar och tidpunkter fanns för totala organiska syror och alla individuella syror utom mjölksyra. Även dessa skillnader var dock små och oregelbundna. Interaktioner mellan hästar och foderslag fanns för totala organiska syror och för individuella syror bortsett från mjölksyra och propionsyra. Dessa interaktioner var också små och kunde tillskrivas en, eller i enstaka fall två hästar, som svarade aningen annorlunda på något av fodren.

Tabell 2. Kemisk och mikrobiologisk sammansättning i prover från två olika platser (högra ventralcolon och faeces) från hästar som utfodrats med vallfoder konserverade med olika metoder (ensilage, hösilage och hö) (dag 21, n=4). Det fanns inga generella skillnader mellan foder ( $P>0.21$ ) eller interaktioner mellan foder och provtagningsplats ( $P>0.21$ )

Variabel	Ensilage		Hösilage		Hö		SEM	P-värde Plats
	Colon	Faeces	Colon	Faeces	Colon	Faeces		
Kemisk sammansättning								
Torrsubstans, g/kg	81 <sup>a</sup>	233 <sup>b</sup>	117 <sup>a</sup>	242 <sup>b</sup>	50 <sup>a</sup>	234 <sup>b</sup>	23.6	<0.0001
pH <sup>A</sup>	6.78 <sup>a</sup>	6.19 <sup>b</sup>	6.62 <sup>a</sup>	6.29 <sup>b</sup>	6.71 <sup>a</sup>	6.05 <sup>b</sup>	1.43x10 <sup>-7</sup>	0.0003
Mjölksyra, mM	0.17	0.08	0.08	0.09	0.05	0.11	0.059	0.92
Ättiksyra, mM	43.0 <sup>a</sup>	23.1 <sup>b</sup>	37.2 <sup>a</sup>	27.4 <sup>b</sup>	47.9 <sup>a</sup>	32.8 <sup>b</sup>	5.63	0.003
Propionsyra, mM	11.0 <sup>a</sup>	8.0 <sup>b</sup>	11.8 <sup>a</sup>	8.5 <sup>b</sup>	12.2 <sup>a</sup>	9.9 <sup>b</sup>	1.69	0.04
<i>i</i> -Smörsyra, mM	0.8	0.6	0.6	0.9	0.8	0.7	0.26	0.87
Smörsyra, mM	3.6 <sup>a</sup>	2.2 <sup>b</sup>	3.7 <sup>a</sup>	2.5 <sup>b</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.0 <sup>b</sup>	0.57	0.01
<i>i</i> -Valeriansyra, mM	0.8	0.6	0.5	0.8	0.8	0.6	0.27	0.89
<i>n</i> -Valeriansyra, mM	0.4	0.3	0.3	0.5	0.4	0.4	0.10	0.55
Totala organiska syror, mM	59.9 <sup>a</sup>	34.8 <sup>b</sup>	54.2 <sup>a</sup>	40.7 <sup>b</sup>	66.0 <sup>a</sup>	47.9 <sup>b</sup>	7.95	0.006
Mikrobiell sammansättning <sup>B</sup>								
Totala anaeroba bakterier	8.2	7.61	8.2	8.3	8.1	7.9	7.99x10 <sup>7</sup>	0.38
Cellulolytiska bakterier, MPN/ml <sup>C</sup>	5.3	5.4	5.5	5.5	5.6	5.4	2.24x10 <sup>5</sup>	0.95
Laktatutnyttjande bakterier	7.1	7.6	7.0	7.5	7.3	7.6	1.63x10 <sup>7</sup>	0.09
Laktobaciller	6.5 <sup>a</sup>	7.3 <sup>b</sup>	5.7 <sup>a</sup>	6.6 <sup>b</sup>	5.7 <sup>a</sup>	7.1 <sup>b</sup>	4.65x10 <sup>6</sup>	0.01
Streptokocker	6.3	5.6	5.3	5.9	5.9	6.9	3.25x10 <sup>6</sup>	0.40

<sup>a,b</sup> Olika bokstäver inom samma rad indikerar skillnad vid det angivna P-värdet.

<sup>A</sup>pH-värden är medel av [H<sup>+</sup>] transformerade till pH, medan SEM-värden är [H<sup>+</sup>].

<sup>B</sup>CFU-värden är CFU/ml transformerade till <sup>10</sup>log-värden, medan SEM-värden är CFU/ml.

<sup>C</sup>MPN, most probable number.

Tabell 3. Kinetikstudie: Kemisk sammansättning i prov från högra ventralcolon från hästar som utfodrats med ensilage, hösilage och hö (n=40)

Variabel	Ensilage	Hösilage	Hö	SEM	P
Torrsubstans, g/kg	37 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	44 <sup>b</sup>	1.2	<0.0001
pH <sup>A</sup>	6.56	6.60	6.64	1.75x10 <sup>-8</sup>	0.21
Glukos, mg/ml	0.01	-0.01	0.04	0.021	0.33
Fruktos, mg/ml	0.03	0.09	0.08	0.028	0.26
Sukros, mg/ml	-0.05	-0.16	0.02	0.132	0.61
Fruktaner, mg/ml	0.08	-0.03	0.01	0.098	0.74
Mjölksyra, mM	0.07	0.06	0.06	0.008	0.68
Ättiksyra, mM	47.2 <sup>a</sup>	43.1 <sup>b</sup>	49.9 <sup>a</sup>	1.141	0.0003
Propionsyra, mM	13.0	12.5	13.3	0.386	0.37
<i>i</i> -Smörsyra, mM	0.9 <sup>a</sup>	0.9 <sup>a</sup>	1.1 <sup>b</sup>	0.029	<0.0001
Smörsyra, mM	4.5	4.2	4.8	0.200	0.11
<i>i</i> -Valeriansyra mM	1.0 <sup>a</sup>	0.9 <sup>a</sup>	1.3 <sup>b</sup>	0.041	<0.0001
<i>n</i> -Valeriansyra, mM	0.6 <sup>a</sup>	0.4 <sup>b</sup>	0.6 <sup>a</sup>	0.019	<0.0001
Totala organiska syror, mM	67.4 <sup>a</sup>	62.1 <sup>b</sup>	71.0 <sup>a</sup>	1.69	0.002

<sup>a,b</sup>Olika bokstäver inom samma rad indikerar skillnad vid det angivna P-värdet.

<sup>A</sup>pH-värden är medel av [H<sup>+</sup>] transformerade till pH, medan SEM-värden är [H<sup>+</sup>].

## Diskussion

### Foder

Ensilaget hade fermenterats i större utsträckning än hösilaget (tabell 1), vilket var väntat eftersom högre ts-halter begränsar fermentationen (Gordon *et al.*, 1961; McDonald *et al.*, 1991). Höet innehöll större antal enterobakterier och mögel än ensilaget och hösilaget, något som även rapporterats tidigare (Müller & Udén, 2007). Enterobakterier är känsliga för sänkningar i pH-värdet och dör vanligen av under de första dagarna av ensileringen (Spoelstra, 1987; Heron *et al.*, 1993). Den större mögelmängden i höet berodde troligen på den känslighet för fukt under lagring som torrt hö alltid är utsatt för, eftersom fuktigt hö är ett utmärkt substrat för mögeltillväxt (Lacey, 1989).

### Prover från kolon och faeces

Utfodring med ensilage, hösilage eller hö resulterade inte i några påvisbara skillnader i kemisk eller mikrobiologisk sammansättning i coloninnehåll eller faeces. Förändringar i caecum eller colon som lägre pH och ättiksyrakoncentration och högre innehåll av propionsyra, smörsyra och mjölksyra har rapporterats i samband med avsiktliga störningar av tarmfloran, ofta genom att öka mängden kraftfoder i foderstaten (Hintz *et al.*, 1971; Kern *et al.*, 1973; Willard *et al.*, 1977; Garner *et al.*, 1978; Goodson *et al.*, 1988; deFombelle *et al.*, 2001; Julliand *et al.*, 2001; Medina *et al.*, 2002). Abrupta foderbyten eller hög andel korn i foderstaten har resulterat i högre antal totala anaeroba bakterier, laktobaciller och streptokocker i colon (deFombelle *et al.*, 2001) liksom ökat antal laktatutnyttjande bakterier och cellulolytiska bakterier (Julliand *et al.*, 2001). Sådana förändringar observerades inte i detta försök.

Kern *et al.* (1974) och Mackie & Wilkins (1988) redovisade högre andel acetat och lägre andel propionat jämfört med denna studie, men de båda förstnämnda tog prov från andra ställen i grovtarmen och hade andra fodermedel (hö och betesgräs). Hintz *et al.* (1971) redovisade dock molproportioner för acetat:propionat: butyrat:valerat liknande proportionerna i denna studie, liksom mängden totala organiska syror och pH. Ättiksyra är en vanlig fermentationsprodukt från bakteriesläkten som *Bacterioides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*,



*Propionibacterium*, *Selenomas* och *Streptococcus*), och förekomsten av ättiksyra indikerar att det substrat som fermenteras har låga halter av lätt fermenterbara kolhydrater (Mackie & Wilkins, 1988). Laktathalten var generellt mycket låg i denna studie, vilket överensstämmer med Mackie & Wilkins (1988) och Alexander & Davies (1963), som båda redovisade laktatnivåer under 0.6 mM i colon hos hästar. Mjölksyra är slutprodukten i anaerob fermentation som utförs av bakterier och jäst då lätt fermenterbara kolhydrater finns närvarande (Mackie & Wilkins, 1988).

Användning av faecesprover som indikatorer för status i högra ventralcolon kan vara av intresse då olika foderslag studeras, eller då hälsundersökningar av digestionskanalen hos hästar företas. Faeces- och kolonprover var olika med avseende på pH, totala organiska syror, acetat, propionat och butyrat, vilka samtliga var högre i colon. Innehållet av laktobaciller och ts var högre i faeces. Även om de numeriska värdena skilde sig mellan prover från colon och faeces, så var molproportionerna lika i de båda provtyperna.

I den kinetiska studien var WSC och molproportionerna för acetat:propionat:butyrat:valerat i colon lika oavsett vilket foder hästen utfodrades med. Det fanns inga interaktioner mellan foderslag och provtagningstidpunkt, vilket påvisar att alla fodertyperna uppförde sig likadant i colon.

Det fanns små skillnader mellan hästarna i fermentationsmönstret i både colon och faeces, vilket påvisar en viss individuell variation i digestion. Detta bör man ta hänsyn till då prover från colon- eller faeces används i forsknings- eller hälsundersökningssammanhang.

## Slutsatser

Konserveringsmetoden för vallfoder (hö, hösilage eller ensilage) inverkar inte på kemisk eller mikrobiell sammansättning av innehållet i högra ventralcolon eller i faeces hos hästar. Faeces kan i viss mån indikera status i högra ventralcolon. Det finns en liten individuell variation i grovtarmsjäsningen mellan hästar.

## Referenser

- Alexander, F., Davies, M.E., 1963. Production and fermentation of lactate by bacteria in the alimentary canal of the horse and pig. *J. Comp. Path.* 73, 1-8.
- Andersson R., Hedlund B., 1983. HPLC analysis of organic acids in lactic acid fermented vegetables. *Z. Lebensm. -Unters. Forsch.* 176, 440-443.
- Billysson, F., 2002. A survey of the feeding of horses at riding schools in southern Sweden (In Swedish). BSc thesis P 00/02:12. Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden.
- Darby, N.W., Mosley, J.C., Davitt, B.B., Bohach, G.A., 1995. Effects of diet on ungulate excretion of *Enterococcus* spp., *Streptococcus bovis* and *Streptococcus equinus* in feces. *J. Environ. Qual.* 24, 719-724.
- de Fombelle, A., Julliand, V., Drogoul, C., Jacotot, E., 2001. Feeding and microbial disorders in horses: 1- effect of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities. *J. Equine Vet. Sci.* 21, 439-445.
- de Fombelle, A., Varloud, M., Goachet, A-G., Jacotot, E., Philippeau, C., Drogoul, C., Julliand, V., 2003. Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets. *Anim. Sci.* 77, 293-304.
- Garner, H.E., Moore, J.N., Johnson, J.H., Clarke, L., Amend, J.F., Tritschler, L.G., Coffman, J.R., Sprouse, R.F., Hutcheson, D.P., Salem, C.A., 1978. Changes in the caecal flora associated with the onset of laminitis. *Equine Vet. J.* 10, 249-252.
- Goodson, J., Tyznik, W. J., Cline, J.H., Dehority, B.A., 1988. Effects of an abrupt diet change from hay to concentrate on microbial numbers and physical environment in the cecum of the pony. *Appl. Environ. Microb.* 54, 1946-1950.
- Gordon, C.H., Derbyshire, J.C., Wiseman, H.G., Kane, E.A., Melin, C.G. 1961., Preservation and feeding value of alfalfa stored as hay, haylage and direct-cut silage. *J. Dairy Sci.* 44, 1299-1311.
- Heron S.J.E., Wilkinson J.F., Duffus C.M., 1993. Enterobacteria associated with grass and silages. *J. Appl. Bacteriol.* 75, 13-17.
- Hintz, H.F., Argenzio R.A., Schryver H.F., 1971. Digestion coefficients, blood glucose levels and molar

- percentage of volatile fatty acids in intestinal fluid of ponies fed varying forage-grain ratios. *J. Anim. Sci.* 33, 992-995.
- Holmquist, S., Müller, C.E., 2002. Problems related to feeding forages to horses. In: Gechie, L.M., Thomas, C. (Eds.) Conference Proceedings XIIIth International Silage Conference, Auchincruive, Scotland, UK, pp. 152-153.
- Jansson A. (Ed.), 2004. Utfodningsrekommendationer för häst (*Feeding recommendations for horses*) (*In Swedish*). Department of Equine Studies, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Julliand, V. de Fombelle, A., Drogoul, C., Jacotot, E., 2001. Feeding and microbial disorders in horses: part 3 – Effects of three hay:grain ratios on microbial profile and activities. *J. Equine Vet. Sci.* 21, 543-546.
- Kern, D.L., Slyter, L.L., Weaver, J.M., Leffel, E.C., Samuelson, G., 1973. Pony cecum vs. steer rumen: the effect of oats and hay on the microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 37, 463-469.
- Kern, D.L., Slyter, L.L., Leffel, E.C., Weaver, J.M., Oltjen, R.R., 1974. Ponies vs steers: microbial and chemical characteristics of intestinal digesta. *J. Anim. Sci.* 38, 559-564.
- Kropp, S., 1991. Bakteriologiske Untersuchungen zur Zusammensetzung der Darmflora des Pferdes und deren Beeinflussung durch Chemotherapeutika (*In German*). Dissertation, Tierärztlichen Hochschule Hannover, Germany, pp. 11-27.
- Lacey, J., 1989. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *J. Appl. Bacteriol.* 67 (Suppl.), 11S-25S.
- Larsson K., Bengtsson S., 1983. Bestämning av lättillgängliga kolhydrater i växtmaterial. (Determination of water soluble carbohydrates in plant material). (*In Swedish*). Method 22. Uppsala, Sweden: Statens Lantbrukskemiska Laboratorium.
- Lindvall, E., 2000. Attitudes towards wrapped forages, a comparison between riding schools in Dalarna and Skåne (*In Swedish*). BSc thesis no, 107. Department of Equine Studies, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Mackie, R.I., Wilkins, C.A., 1988. Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine intestinal tract. *Appl. Environ. Microb.* 54, 2155-2160.
- McDonald P., Henderson A.R., Heron S.J.E., 1991. The biochemistry of silage. 2<sup>nd</sup> edition, Marlow, Bucks, UK: Chalcombe Publications. p.273.
- Medina, B., Girard, I.D., Jactot, E., Julliand, V., 2002. Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profile and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fibre or a high starch diet. *J. Anim. Sci.* 80, 2600-2609.
- Moore, B.E., Dehority, B.A., 1992. Effects of diet and protozoa on total and cellulolytic bacterial and fungal concentrations in the cecum and colon of the equine. *J. Anim. Sci.* 70 (Suppl. 1), 240.
- Müller, C.E., Udén, P., 2007. Preference of horses for grass conserved as hay, haylage or silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 132, 66-78.
- Raymond, S.L., Curtis, E.F., Winfield, L.M., Clarke, A.F., 1997. A comparison of respirable particles associated with various forage products for horses. *Equine Pract.* 19, 23-26.
- Reeves, M.J., Salman, M.D., Smith, G., 1996. Risk factors for equine acute abdominal disease (colic): Results from a multi-center case-control study. *Prev. Vet. Med.* 26, 285-301.
- Robertson, J.B., Van Soest, P.J., 1981. The detergent system of analysis. In: James, W.P.T., Theander, O. (Eds.), *The analysis of dietary fibre in food*. Marcel Dekker, N.Y. and Basel, pp. 123,158.
- Robinson, N.E., Derksen, F.J., Olszewski, M.A., Buechner-Maxwell, V.A., 1996. The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses. *Br. vet. J.* 152, 283-306.
- Ronéus, B., Ronéus, N., Franklin, A., Jonsson, P., 1993. Behandling med standardiserad kolikultur vid tarmflorerubbning hos hästar (Treatment of horses with disturbed intestinal microflora using standardised coli culture) (*In Swedish*). *Svensk Veterinärtidning* 45, 201-204.
- Rowe, J.B., Lees, M.J., Pethick, D.W., 1994. Prevention of acidosis and laminitis associated with grain feeding in horses. *J. Nutr.* 124, 2742S-2744S.
- Spoelstra, S.F., 1987. Degradation of nitrate by enterobacteria during silage fermentation of grass. *Neth. J. Agric. Sci.* 35, 43-54.
- Vandenput, S., Istasse, L., Nicks, B., Lekeux, P., 1997. Airborne dust and aeroallergen concentrations in different sources of feed and bedding for horses. *Vet. Quart.* 19, 154-158.
- Vandenput, S., Duvivier, D.H., Votion, D., Art, T., Lekeux, P., 1998. Environmental control to maintain stabled COPD horses in clinical remission: effects on pulmonary function. *Equine Vet. J.* 30, 93-96.
- Willard, J.G., Willard, J.C., Wolfram, S.A., Baker, J.P., 1977. Effect of diet on cecal pH and feeding behaviour of horses. *J. Anim. Sci.* 45, 87-93.