



# Slutrapport

## Optimerad skötsel och näringsförsörjning vid kläckning för en robustare kyckling

**Projektnummer: O-16-20-748**

**Projektperiod: 2017-01-01 - 2019-12-31**

### Huvudsökande:

Helena Wall, Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges lantbruksuniversitet, Helena.Wall@slu.se

### Medsökande:

Emma Ivarsson, SLU

Eva Wattrang, SVA

Patrik Ellström, Uppsala Universitet

Robin Karlsson, Lantmännen Agroetanol AB

Henrik Pavia, Göteborgs Universitet

Robin Karlsson, Lantmännen Agroetanol AB

Erik Hult, Scandi Standard

Oskar Nilsson, SVA

## Del 1: Utförlig sammanfattning

In commercial hatching systems, a delay in access to feed is a necessity due to individual variation in hatching time, routines at the hatchery such as quality check and sorting, and time needed for transportation of chicks to the farm. Negative impact of delayed feed intake post hatch on gut development, immune function and mortality has been shown in previous studies. To deal with the setback of delayed access to feed and water in commercial hatching conditions, alternative concepts such as on-farm hatching have been developed.

Supplementing chicken feed with bioactive compounds can be a way to support the development of a healthy gut and in turn facilitate the development of the immune function. Laminarin and chitin are both complex polysaccharides with proved bioactive properties in previous studies in poultry. The brown algae *Laminaria digitata* is a source of laminarin and chitin is present in the cell walls of the fungi *Neurospora intermedia*.

The aim of this project was to investigate effects of the combination of early access to feed and water post hatch and supplementation with bioactive compounds from the

Projekt har fått finansiering genom:

brown algae *L. digitata* and the fungi *N.intermedia*. We hypothesized that supplementing broiler starter diets with brown algae extract or *N .intermedia* biomass, would influence gut microbiota, facilitate gut development and improve chick's immune response. The effects would be more pronounced when feed and water was available already during hatching.

Two trials were conducted at SLU's research facility outside Uppsala. In the trial referred to as the "fungi trial", effects of including 10% *N. intermedia* biomass, corresponding to two grams of chitin per 100 g feed, were evaluated. In the other trial referred to as the "algae trial" effects of including an algae extract with laminarin was evaluated at two inclusion levels corresponding to 250 and 500 ppm laminarin per kg feed. The bioactive additives were only present in the starter diets, provided for nine days in the fungi trial and six in the algae trial.

In both trials, access to feed and water immediately post hatch resulted in an initially higher feed intake and body weight compared to chickens denied access for two days post hatch. In the fungi trial, differences in body weight remained only until day nine, whereas in the algae trial the higher body weights gained by early feed access remained until the end of the trial at six weeks. Another difference was that the chicks in the algae trial with early access to feed and water consumed 20 gram feed during the period when the chicks with late access to feed and water was still deprived of the resources. In the fungi trial, the chicks with early access to feed and water consumed only nine grams of feed during the corresponding period. In the fungi trial, no other effects of immediate or delayed access to feed and water were seen. In the algae trial some indications of effects on the lymphoid organs *Bursa Fabricii* and spleen were observed, with higher relative weight of the bursa at day six, and a tendency of higher relative weight of the spleen in chicks with early access to feed. However, no effect of early or late access to feed was seen on maternal IgY in chick serum, antibody responses following avian pneumovirus vaccination, or on composition of gut microbiota. Despite proven effects of laminarin and chitin in earlier studies, no effects of supplementing starter feed with algae extract or *N. intermedia* biomass were observed in the present study.

In conclusion, some positive effects of provision of feed and water already at hatch were seen in the algae trial, where the feed intake was higher than in the fungi trial during the first days. It is possible that feed intake of chicks with early access to feed in the fungi trial was not high enough to make a significant difference, indicating the importance of an early feed intake young chicks. Regarding the bioactive feed additives, it cannot be excluded that intake during a longer period is needed to alter gut microbiota and improve immune function in the way shown in other studies. It might also be that the bioactive additives evaluated can be of importance if chicks are challenged by something depressing the immune function or disrupting the normal gut microbiota.

## **Del 2: Rapporten (max 10 sidor)**

### **Inledning**

Trots att gulesäcken förser kycklingen med näring första dygnet efter kläckning ifrågasätts ibland om näringen i den är tillräcklig för att tillgodose behoven hos moderna kycklinghybrider med hög tillväxtkapacitet. Flera studier har visat att fördröjd tillgång till foder och vatten efter kläckning ger kycklingarna en försämrad utveckling av mag-tarmkanalen (Lamot et al., 2014), försämrad immunfunktion (Bar Shira et al., 2005) samt sämre tillväxt och högre dödlighet (De Jong et al., 2017). Under senare år har intresset ökat för alternativ till traditionell kläckning av kycklingar på kläckeri. En möjlighet är att kläcka kycklingarna ute på gården i kycklingstallet. Äggen ruvas då som vanligt på kläckeriet men istället för att flyttas över till en kläckare efter 18 dagar i ruvaren, transporteras de ut till kycklinggården för att kläckas där under efterföljande dygn. De fördelar som ofta förs fram i samband med kläckning på gården är att kycklingarna kläcks i en lugnare miljö, de behöver inte sorteras eller hanteras på kläckeriet, och inte heller transporteras. En annan skillnad mellan traditionell kläckning på kläckeri och kläckning på gården är att kycklingar som kläcks på gården har tillgång till foder och vatten direkt.

Ett sätt att stimulera en gynnsam tarmmikrobiota och ett balanserat och välfungerande immunförsvar är att tillsätta bioaktiva ämnen i fodret. Tillsats av de bioaktiva ämnena laminarin och fucoidan från brunalg i fodret har i tidigare studier på kyckling och gris, resulterat i positiva effekter på tarmhälsa och immunfunktion (McDonnell et al., 2010; Sweeney et al., 2017), och bland annat reducerat förekomsten av icke önskvärda *Enterobacteriaceae* bakterier (Reilly et al., 2008). Ett annat ämne med bioaktivitet är kitin som förekommer bland annat i skalet på insekter och räkor samt i cellväggarna på svampar tillhörande gruppen Ascomycetes. När kitin bryts ner bildas kito-oligosackarider som har en påvisat positiv effekt på immunfunktion och förmåga att dämpa infektioner (Kim & Rajapakse, 2005). Om kycklingen kläcks på gården kan de bioaktiva ämnena i fodret nå kycklingtarmen betydligt tidigare än vid traditionell kläckning, vilket sannolikt ökar möjligheterna att etablera en gynnsam mikrobiota (Roto et al. 2016; Rubio, 2019) och stimulera utvecklingen av immunfunktionen.

Projektet genomfördes med syftet att:

- a) utvärdera huruvida biomassa av Ascomycetessvampen *Neurospora intermedia* respektive extrakt från algen *Laminaria digitata* i fodret kan leda till en mer utvecklad mag-tarmkanal och tarmmikrobiota samt ett välutvecklat och balanserat immunförsvar
- b) studera hur tidig respektive sen tillgång till foder och vatten påverkar kycklingens utveckling och tillväxt
- c) demonstrera för- och nackdelar med att kläcka kycklingar på gården.

Hypotesen var att den positiva effekten av bioaktiva ämnen förstärks när kycklingen ges tillgång till foder och vatten redan i samband med kläckning. Vi att valde utvärdera effekterna av tillsatserna endast i kycklingarnas startfoder, dels eftersom startfodret utgör en liten andel av kycklingens totala foderintag och därmed påverkar en relativt dyr

tillsats slutproduktens kostnad i begränsad omfattning. Vi ville också se om eventuella förändringar av tarmmikrobiotan till följd av tidigt intag av de bioaktiva tillsatserna kunde ge långvariga effekter som varade fram till slakt.

## Materiell och metoder

Två försök genomfördes på Lövstas forskningsanläggning utanför Uppsala. I det ena försöket, "Neurospora" utvärderades effekten av att tillsätta biomassa av den ätliga svampen *Neurospora intermedia* i kycklingarnas startfoder. Biomassan var en restprodukt från ett pilotförsök vid Lantmännens Agroetanols etanolfabrik där *N. intermedia* odlades på en restprodukt från den ordinarie etanolframställningen. Odlingen av *N. intermedia* resulterade i ytterligare etanol samt en proteinrik svampbiomassa. I det andra försöket, "Laminaria", testades istället ett algextrakt av *Laminaria digitata* i startfodret. Algen var odlad på västkusten och extraktionen utfördes av forskare på Kristineberg marina forskningsstation, Göteborgs Universitet.

I båda försöken hämtades ägg av Ross 308 från ett kommersiellt kläckeri vid inkubationsdag 18. Äggen placerades på äggbrickor i kycklingstallet i en modul som användes för kläckning. Efter ankomst till fjäderfåanläggningen på Lövsta forskningscentrum och fram till att äggen började kläckas kontrollerades regelbundet att äggens skaltemperatur höll sig mellan 36 och 38 °C. Vid behov justerades temperaturen i djurutrymmet. Allteftersom kycklingar kläcktes placerades de ut i 36 grupper. Kycklingarna fördelades så att alla grupper innehöll samma fördelning av kycklingar kläckta vid olika tidpunkter i kläckfönstret (perioden som kläckningen pågick). Tidpunkten för när alla kycklingar var utplacerade i sina respektive grupper definierades som dag (d) 0 i försöken. Varje replikat inhystes i en upphöjd modul med golvarean 1,5×0,75 m. Modulerna hade strö på botten och var utrustade med 3 vattenniappar och en foderbehållare och vid försöksstart hade varje modul 12 kycklingar.

## Försöksdesign och fodersammansättning

### Kläckbehandling

För att undersöka effekten av tidigt foderintag ingick två kläckbehandlingar i försöken – Early (E) och Late (L). E-grupper fick foder och vatten direkt allteftersom de kläcktes och behövde inte vänta in att övriga kycklingar skulle kläckas. Kycklingarna i L-grupper fick först vänta in att samtliga kycklingar kläckts (d0), vilket tog ungefär ett dygn, och därefter vänta ytterligare ca två dygn på att få tillgång till foder och vatten.

### Foderbehandlingar

Svampbiomassa respektive algextrakt utvärderades endast som tillsats i kycklingarnas startfoder. Startfodret som utgjorde kontroll var i båda försöken en foderblandning med vete och sojamjöl som huvudsakliga ingredienser. Försöksfodren och kontrollfodren (C) var i respektive försök formulerade för att vara likvärdiga beträffande innehåll av energi och näringsämnen. Efter perioden med startfoder utfodrades alla kycklingarna i försöken med samma tillväxtfoder som var ett standardfoder levererat av Lantmännen. Alla foder var utan koccidiostatika.

I Neurosporaförsöket tillverkades ett försöksfoder med 10 % inblandning av svampbiomassa. Det finns idag ingen specifik analysmetod för kitin. Vi skattade innehållet av kitin genom analys av ADF-fiber (23 g ADF per 100 g biomassa), under antagandet att merparten av ADF-fibern utgjordes av kitin i svampens cellväggar. Därmed skattades innehållet av kitin i svampbiomassan till ca 20 % och i fodret till 2 %. Försöksfodret med Neurospora (N) utfodrades antingen under hela perioden med startfoder (N), det vill säga fram till och med d9, eller enbart till och med d5 (NC), se tabell 1.

**Tabell 1. Försöksdesign i Neurosporaförsöket. Häften av grupperna (n=18) fick tidig tillgång till foder, övriga (n=18) fick vänta 48 h efter avslutad kläckning. Dag (d)10 och fram till försökslut d43 utfodrades alla grupper med samma tillväxtfoder**

Behandling	Early (E) – Tidig fodertillgång			Late (L) – Sen fodertillgång		
	NC-E (n=6)	N-E (n=6)	C-E (n=6)	NC-L (n=6)	N-L (n=6)	C-L (n=6)
foder t.o.m d5	Neurospora (N)	Neurospora (N)	Kontroll (C)	Neurospora (N)	Neurospora (N)	Kontroll (C)
foder d6-d9	Kontroll (C)	Neurospora (N)	Kontroll (C)	Kontroll (C)	Neurospora (N)	Kontroll (C)

I Laminariaförsöket utfodrades tre olika startfoder till och med d6; kontrollfoder (C), foder med låg (0,057 %) inblandning av algextrakt (AEL) samt foder med hög (0,114 %) inblandning av algextrakt (AEH), se tabell 2. Innehållet av laminarin i extraktet skattades till ca 45 % och inblandningsnivåerna motsvarade därmed 250 respektive 500 ppm laminarin per kg foder.

**Tabell 2. Försöksdesign i Laminariaförsöket. Häften av grupperna (n=18) fick tidig tillgång till foder, övriga (n=18) fick vänta 38 h efter avslutad kläckning. Dag (d)7 och fram till försöksavslut d40 utfodrades alla grupper med samma tillväxtfoder**

Behandling	Early (E) – Tidig fodertillgång			Late (L) – Sen fodertillgång		
	AEL-E (n=6)	AEH-E (n=6)	C-E (n=6)	AEL-L (n=6)	AEH-L (n=6)	C-L (n=6)
foder t.o.m d6	AlgaeExtrakt-Låg (AEL)	AlgaeExtrakt-Hög (AEH)	Kontroll (C)	AlgaeExtrakt-Låg (AEL)	AlgaeExtrakt-Hög (AEH)	Kontroll (C)

## Registreringar och provtagningar

Tidpunkter och omfattning av registreringar och provtagningar i försöken ”Neurospora” och ”Laminaria” framgår av tabell 3.

### Levande vikt, foderintag och foderomvandlingskvot

Döda kycklingar registrerades dagligen. Kycklingarna vägdes gruppvis en gång i veckan och samtidigt registrerades foderförbrukningen. Foderomvandlingskvot (FCR: kg foder/kg tillväxt) beräknades med korrigeringsfaktor för dödlighet.

### Mätning av organ och insamling av prov för analys av mikrobiota

Vid tre tillfällen i respektive försök avlivades två kycklingar per grupp. Direkt efter avlivning dissekerades blindtarmarna fram och innehållet frystes omedelbart ned i

flytande kväve. Därefter registrerades tunntarms längd och vikt (från muskelmage till blindtarmar) samt vikt på *bursa Fabricii*, lever, mjälte, körtelmage+muskelmage och muskelmage (utan innehåll). Proverna med blindtarmsinnehåll förvarades i -80 °C fram till dess DNA extraktion genomfördes. Den mikrobiella sammansättningen i proverna (216 per försök) analyserades med så kallad Next generation sequencing technique, vilket förenklat kan beskrivas som en kartläggning av vilka och relativ andel av de bakterier som finns i ett prov baserat på bakteriernas arvsmassa (DNA). DNA extraherades vid SLU och sekvenseringen gjordes av Novogene (HK) Company Limited, Hong Kong.

### Maternella antikroppar och antikroppssvar vid vaccination

Hur mycket antikroppar från hönsmamman kycklingarna tog upp via gulesäcken samt hur snabbt dessa förbrukades analyserades genom att bestämma mängden immunglobulin Y (IgY) i serum med ELISA metodik. Analysen utfördes endast i Neurospora-försöket. I båda försöken utvärderades utvecklingen av kycklingens egna immunförsvar genom att följa hur de bildade antikroppar mot ett smittämne de inte tidigare utsatts för. Kycklingarna vaccinerades därför med ett kommersiellt inaktiverat vaccin mot aviärt pneumovirus (APV) vid d8 (Neurospora) respektive d10 (Laminaria) och antikroppar mot APV analyserade i serum med ELISA metodik. Antikroppsanalyserna utfördes på fokalkycklingarna och blodprov togs från jugularvenen på dessa vid tidpunkterna angivna i tabell 3.

**Tabell 3. Tidpunkter och omfattning av registreringar och provtagningar under försöken "Neurospora" och "Laminaria"**

	Neurospora	Laminaria	
Blindtarmsinnehåll samt organvikt/längd	Dag 5, 9, 43	Dag 6, 19, 40	2 djur per grupp vid varje ålder
Maternella antikroppar (IgY)	Dag 2, 8	-	3 fokaldjur per grupp
Antikroppar mot APV	Dag 8, 42	Dag 10, 40	3 fokaldjur per grupp
Levande vikt samt foderintag	Dag 2, 5, 9, 16, 23, 33, 37, 43	Dag 1, 6, 12, 19, 26, 33, 40	Gruppvis

### Statistisk bearbetning

Tillväxt, foderintag, FCR och organdata analyserades med variansanalys i Proc Mixed i SAS med grupp som experimentell enhet. P-värden under 0,05 betraktades som signifikanta. Analysen av organ gjordes på relativ organvikt, dvs gram per kg kroppsvikt, för att korrigera för att en tyngre kyckling sannolikt har tyngre organ. Antikropps nivåer, µg/ml för IgY respektive absorbansvärden för APV, analyserades som gruppmedelvärde ± 95% konfidensintervall. Medelvärden utan överlappande konfidensintervall tolkades som signifikant skilda. För tarmmikrobiota användes Permutational analysis of variance (PERMANOVA) för att analysera huruvida prover inom behandling (t.ex ålder, startfoder, kläckbehandling) var signifikant skilda.

## Resultat och diskussion

### Tillväxt och foderintag

De bioaktiva fodertillsatserna påverkade inte kycklingarnas tillväxt, foderintag eller FCR. Däremot framkom vissa skillnader av kläckbehandlingarna (Early respektive Late), vilka redovisas i tabell 4 och 5. I båda försöken resulterade tillgång till foder och vatten direkt efter kläckning i ett högre foderintag och en högre kroppsvikt i början av tillväxtperioden jämfört med kycklingarna som fick vänta. I Laminariaförsöket kvarstod skillnaderna i foderintag och kroppsvikt under hela försöket och kycklingarna med tidig tillgång till foder hade vid sex veckors ålder ätit 5,1 % mer foder och vägde 5,9 % mer än kycklingarna som fått vänta på foder och vatten. I Neurosporaförsöket varade skillnaderna i foderintag och kroppsvikt endast fram till d9, vid senare mätningar sågs inga skillnader. Det var ingen skillnad i foderomvandlingsförmåga i försöken. Av tidigare studier med fokus på effekter av omedelbar eller fördröjd tillgång till foder och vatten visar en del på bestående viktskillnader fram till slakt (de Jong et al., 2017), vilket överensstämmer med resultaten i Laminariaförsöket. Andra studier visar som i Neurosporaförsöket, att kycklingar med initialt lägre vikt till följd av fördröjd tillgång till foder och vatten växer kompensatorisk, och ingen skillnad kvarstår vid slakt (de Jong et al., 2019). Vi vet inte säkert varför skillnaderna i foderintag och viktutveckling kvarstod i Laminariaförsöket men inte i Neurospora. En möjlig förklaring kan vara att kycklingarna i Laminariaförsöket med tidig tillgång till foder åt i genomsnitt 20 gram

**Tabell 4. Viktutveckling, foderintag och FCR i Neurosporaförsöket vid tidig (Early) eller sen (Late) fodertillgång.**

	Early	Late	SEM	P-värde
<b>Levande vikt, gram</b>				
d0	49,1	49,4	0,267	<0,001
d2	62,2	99,5	0,32	<0,001
d5	116,5	203,8	1,83	<0,001
d9	221,2	203,8	5,07	0,023
d16	522,4	510,3	16,94	0,618
d23	1022,0	998,7	28,30	0,568
d33	1677,9	1645,9	36,00	0,538
d37	2529,2	2420,0	69,48	0,279
d43	3033,3	3038,5	51,80	0,935
<b>Foderintag, gram</b>				
d2	9,01	.	0,43	.
d5	74,8	66,2	1,35	<0,001
d9	192,1	174,9	5,89	0,017
d16	489,2	465,2	16,18	0,397
d23	1380,7	1339,6	30,41	0,351
d33	2113,6	2035,5	49,98	0,349
d37	3250,5	3185,7	62,09	0,513
d43	5097,4	5043,5	68,67	0,586
<b>FCR</b>				
d43	1,71	1,68	0,013	0,138

**Tabell 5. Viktutveckling, foderintag och FCR i Laminariaförsöket vid tidig (Early) eller sen (Late) fodertillgång**

	Early	Late	SEM	P-värde
<b>Levande vikt, gram</b>				
d0	42,6	42,3	0,186	0,214
d2	54,3	38,4	0,31	<0,001
d6	144,7	117,0	1,49	<0,001
d12	365,9	313,5	13,38	<0,001
d19	720,5	645,8	15,67	0,003
d26	1274,4	1178,3	22,23	0,005
d33	2086,0	1971,1	43,29	0,012
d40	2919,4	2748,6	73,78	0,023
<b>Foderintag, gram</b>				
d2	19,6	.	2,12	.
d6	97,3	70,9	1,20	<0,001
d12	368,3	310,3	9,13	<0,001
d19	863,8	765,8	17,37	<0,001
d26	1661,9	1508,2	25,48	<0,001
d33	2712,7	2522,9	33,20	<0,001
d40	4030,7	3825,5	58,29	0,006
<b>FCR</b>				
d40	1,42	1,44	0,022	0,536

foder under perioden som övriga kycklingar var utan foder och vatten, medan kycklingarna i svampförsöket med fodertillgång endast åt nio gram under motsvarande period.

### **Organutveckling – digestionsorgan**

Relativa vikten av digestionsorganen (tunntarm, lever, körtelmage+muskelmage samt muskelmage utan innehåll) påverkades inte av om startfodret innehöll tillsats av *N. intermedia* biomassa eller algextrakt. Vissa skillnader mellan kläckbehandlingar sågs. Kläckbehandlingen Late hade i båda försöken en signifikant längre tunntarm i förhållande till kroppsvikten, dock endast vid första mättillfället d5 respektive d6. Tunntarmens relativa vikt var opåverkad av kläckbehandling i Laminariaförsöket, men i Neurospora fanns en tendens ( $P < 0,054$ ) till högre relativ vikt d9 hos L-kycklingar. I Laminaria hade L-kycklingarna tyngre muskelmage (utan innehåll) d6 medan ingen skillnad sågs i Neurosporaförsöket. I båda försöken var relativa vikten av körtelmage+muskelmage (med innehåll) högre hos L-kycklingar. Leverns relativa vikt påverkades inte av kläckbehandling i något av försöken. Resultaten är svårtolkade. En genomgång av litteraturen indikerar att tidpunkten för när organ mäts har stor betydelse för utfallet. Noy et al. (2001) visade att vid två dagars ålder hade kycklingar som utfodrats direkt högre relativ tunntarmsvikt jämfört med kycklingar som fastat i 48 timmar. Under dag 2-4, när alla kycklingar hade tillgång till foder, utvecklades tunntarmen kompensatoriskt på kycklingarna som fått vänta på foder, och dag fyra hade istället de sent utfodrade kycklingarna en högre relativ tunntarmsvikt än tidigt utfodrade. Det är därför svårt att jämföra studier där registrering av organvikter gjorts vid olika åldrar. I båda försöken minskade relativa vikten på samtliga digestionsorgan med stigande kycklingålder, och så även relativa längden på tunntarmen. Vid slakt kvarstod inga skillnader i organens relativa vikt eller längd.

### **Organutveckling – lymfoida organ**

*Bursa Fabricii* är ett s.k. primärt lymfoid organ som är unikt för fåglar där utvecklingen av B-celler (som producerar antikroppar) sker. Mjälten är ett sekundärt lymfoid organ där bl.a. B- och T-celler aktiveras vid t.ex. en infektion. I försöken sågs ingen effekt av *N. intermedia* biomassa eller algextrakt i startfodren på relativa vikten av bursan eller mjälten. I Neurosporaförsöket var relativa vikten av bursan oförändrad över tid, medan mjältens relativa vikt var signifikant högre vid sista provtagningstillfället ( $P < 0,001$ ) och inget av organen påverkades av kläckbehandling. I Laminariaförsöket var den relativa vikten av bursan vid första mättillfället d6 högre hos kycklingar med tidig tillgång till foder (E: 2,3) jämfört med kycklingarna som fick vänta på foder (L:1,6), vilket resulterade i ett samspel mellan ålder och kläckbehandling ( $P < 0,047$ ) och tendens till ålderseffekt ( $P < 0,07$ ). Det fanns även en tendens ( $P < 0,073$ ) till högre relativ vikt på mjälten hos kycklingar med tidig tillgång till foder. I överensstämmelse med resultatet i Neurospora så ökade mjältens relativa vikt med stigande ålder.

Den i Laminariaförsöket högre relativa vikten på bursan d6, och tendensen till högre vikt på mjälten relaterat till tidig tillgång till foder och vatten kan vara tecken på att utvecklingen av kycklingarnas immunsystem gick snabbare när de kunnat äta tidigt.

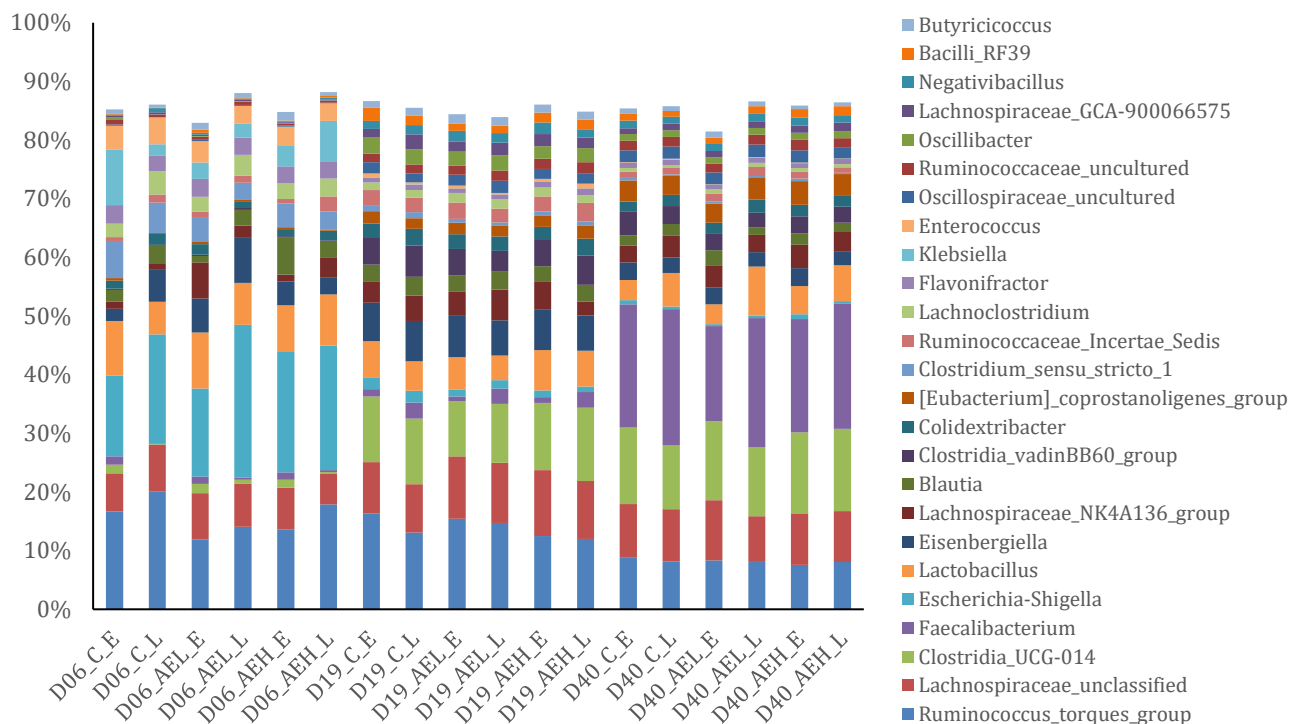


Positiv effekt på bursans och mjältens utveckling hos tidigt utfodrade kycklingar har visats i tidigare studier (Diebner et al. 1998, Panda et al. 2010).

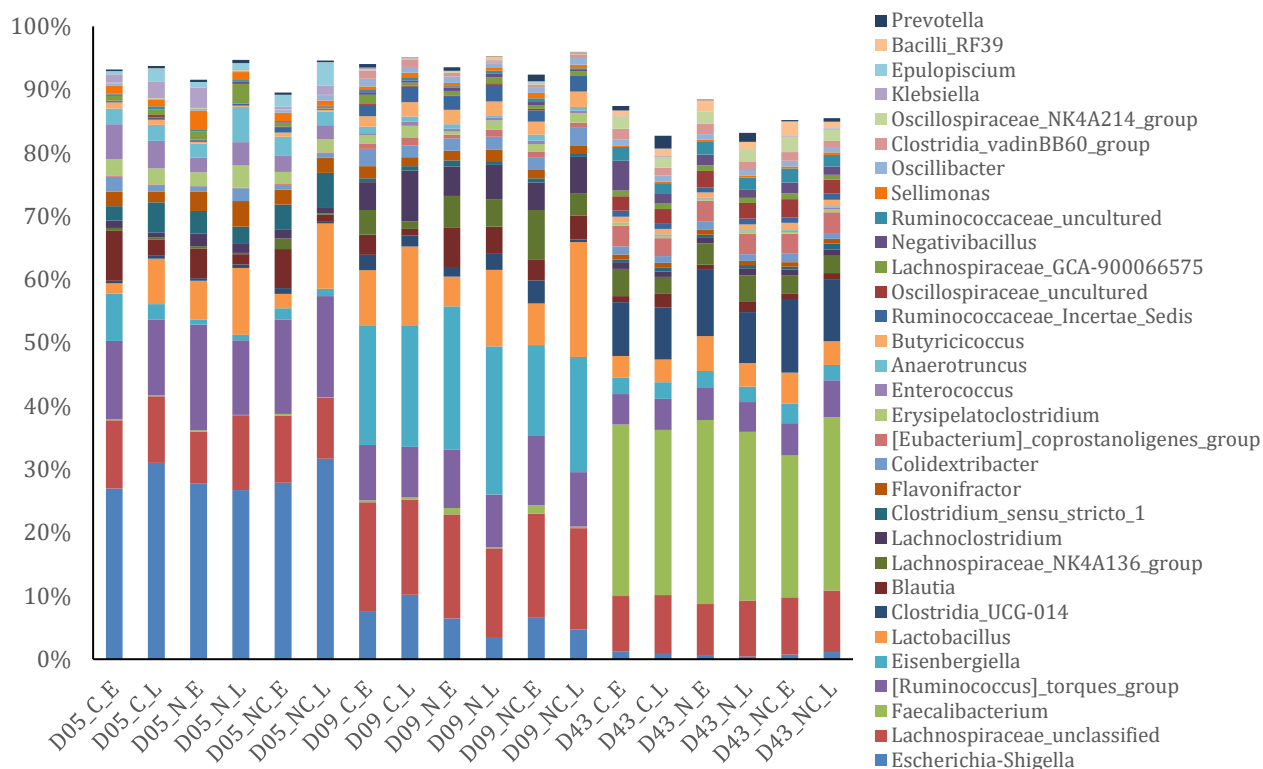
### Tarmmikrobiota

Den relativa förekomsten av de 25 vanligast förekommande bakteriesläktena (genus) illustreras i figur 1 (Laminaria) och figur 2 (Neurospora). Sammansättningen av bakterier i kycklingarnas blindtarmar, påverkades varken av kläckbehandling eller av bioaktiv tillsats i startfodret. Den relativa förekomsten av bakteriesläkten förändrades markant med ålder i båda försöken. Med ökad ålder sågs också en mer differentierad sammansättning (visas ej i figur). Gemensamt i båda försöken var att *Escherichia-Shigella* var den vanligast förekommande bakterien vid första provtagningstillfället med en relativ förekomst på  $19,3 \pm 9,1$  och  $28,7 \pm 11,4$  % (medelvärde  $\pm$ sd) i Laminaria- respektive Neurosporaförsöket. I båda försöken minskade förekomsten av *Escherichia-Shigella* och vid försökens slut var relativa förekomsten endast  $0,5 \pm 0,7$  (Laminaria) respektive  $0,8 \pm 1,2$  % (Neurospora). I båda försöken var *Faecalibacterium* det vanligast förekommande bakteriesläktet vid sista provtagningstillfället med en relativ förekomst på  $20,5 \pm 8,2$  och  $26,5 \pm 9,2$  % (medelvärde  $\pm$ sd) i Laminaria- respektive Neurosporaförsöket.

**Figur 1. Procentuell förekomst (s.k. relativ abundance) av olika bakteriesläkten i blindtarmsprover i Laminariaförsöket.**



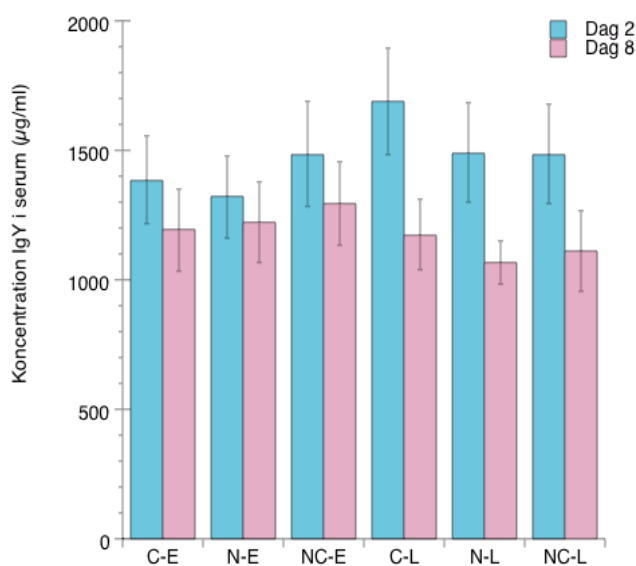
**Figur 2. Procentuell förekomst (s.k. relativ abundance) av olika bakteriesläkten i blindtarmsprover i Neurosporaförsöket.**



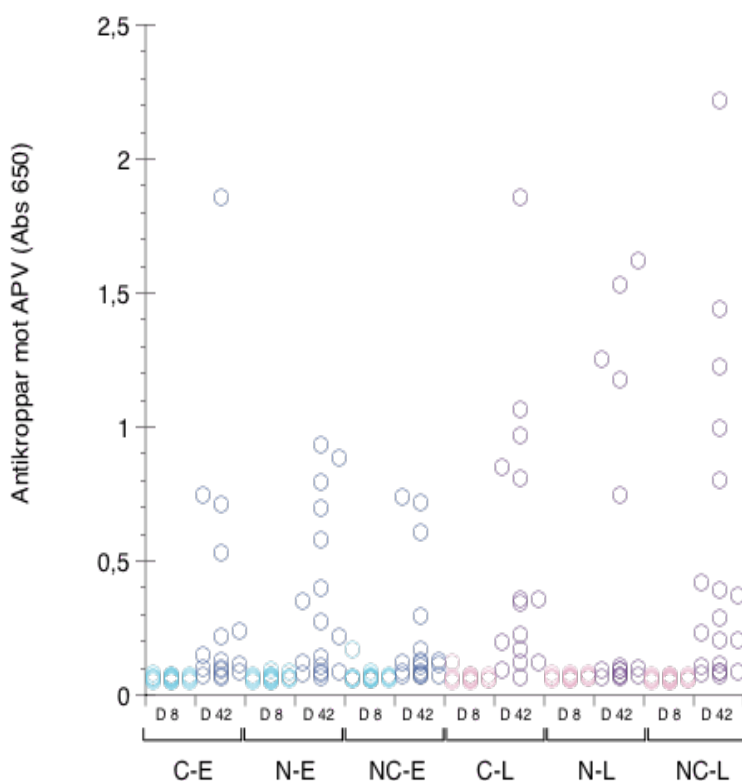
### Immunfunktion

Nivåerna av IgY överförda från hönsmamman i Neurosporaförsöket visas i figur 3 (ej analyserat i Laminariaförsöket). Hos grupperna som fick vänta på foder och vatten (L) var nivåerna signifikant högre d2 än d8, medan ingen skillnad såg inom grupperna med tidig tillgång till foder och vatten (E-grupperna). Eftersom IgY mäts som koncentration i serum kan det inte uteslutas att skillnaden beror på att L-grupperna som ännu inte getts möjlighet att dricka vid provtagningen d2, var dehydrerade, och därmed hade en mindre blodvolym vilket har stor inverkan på koncentrationen. Det var ingen skillnad mellan foderbehandlingarna.

Utvecklingen av kycklingens egna immunförsvar utvärderades genom att följa hur kycklingarna bildade antikroppar efter vaccinering mot APV. För att producera antikroppar mot ett nytt smittämne krävs att många olika delar av immunförsvaret aktiveras och arbetar tillsammans. Hur snabbt och hur mycket antikroppar som bildas kan därför ses som ett mått på hur effektivt kycklingens immunförsvar fungerar. I Neurosporaförsöket (se figur 4) bildade 68 % av kycklingarna antikroppar mot APV, och i Laminariaförsöket 50 % (ej i figur), vilket är att betrakta som ett mycket lågt vaccinsvar i båda försöken. Varken tillsats av algextrakt eller Neurosporabiomassa i startfodret, eller kläckbehandling påverkade nivåerna av antikroppar i blodet hos kycklingarna eller andelen kycklingar som bildade antikroppar.



**Figur 3. Total nivå av IgY i serum i Neurosporaförsöket dag 2 respektive 8. Värden är gruppmedelvärden  $\pm 95\%$  konfidensintervall. Icke-överlappande konfidensintervall indikerar statistisk skillnad.**



**Figur 4. Antikroppar mot APV i serum. Nivåer dag 8 (d8) före vaccination samt efter fyra veckor (d42). Varje cirkel motsvarar absorbansvärde vid 650 nm för en individuell kyckling.**

## Slutsatser

Kycklingar som kan äta och dricka tidigt efter kläckning får ett försprång i foderintag och tillväxt. Hur länge skillnaderna mellan tidigt och sent utfodrade kycklingar består varierar, vilket även andra studier har visat. Den kvarstående högre

kroppsvikten, samt initialt högre relativa vikten på *bursa Fabricii* och tendensen till högre vikt på mjälten som sågs i Laminariaförsöket, kan vara kopplat till att kycklingarna med tillgång till foder och vatten från början i det försöket kom igång och åt mer redan under första dygnet efter kläckning jämfört med i Neurosporaförsöket. Trots att andra studier visat på att tillsats av såväl laminarin som kitin i kycklingars foder kan gynna immunfunktion, sammansättning av bakterier i tarmen och även tillväxt, kunde vi inte påvisa några effekter av tillsatta algextrakt eller svampbiomassa.

Det är möjligt att utfodring under en längre period krävs för att åstadkomma gynnsamma effekter. Det kan inte heller uteslutas att dessa tillsatser kan ha effekt om kycklingarna är utsatta för en påfrestning av något slag, en så kallad ”challenge”, som sätter ner immunförsvaret eller rubbar den normala balansen av bakterier i tarmen.

### Nytta för näringen och rekommendationer

Vissa av resultaten i projektet ger upphov till nya frågeställningar. Kycklingarna svarade i både försöken dåligt på vaccinationen. Vi vet inte om det speglar en sann bild av svag immunfunktion hos slaktkycklingar, eller om den dåliga responsen är kopplad till det specifika vaccinet som användes. I eventuella nya studier av tillsatser med potential att främja utvecklingen av tarmmikrobiota och immunfunktion är det bra att överväga möjligheten att samtidigt utsätta kycklingarna för en ”challenge”. Kläckningen i stallmiljö gick bra och upplevdes som okomplicerad. Vid kläckning i större skala krävs sannolikt en viss insats första dygnet för att gallra bort svaga kycklingar som vid traditionell kläckning skulle tagits bort vid den rutinmässiga sorteringen på kläckeriet. Våra resultat tyder på att bestående skillnader i vikt och positiva effekter på utvecklingen av lymfoida organ eventuellt kan uppnås vis kläckning i stallmiljö givet att kycklingarna kommer igång att äta ordentligt redan under de första levnadsdygnet.

### Referenser

- Bar Shira et al. 2005.** Impaired immune responses in broiler hatchling hindgut following delayed access to feed. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 105, 33–45.
- de Jong, I.C. et al. 2019.** Comparison of performance, health and welfare aspects between commercially housed hatchery-hatched and on-farm hatched broiler flocks, *Animal* 13, 1269-1277.
- de Jong, I.C., et al. 2017.** A 'meta-analysis' of effects of post-hatch food and water deprivation on development, performance and welfare of chickens. *PlosOne* 12: e0189350.
- Dibner, J.J. et al. 1998.** Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research* 7, 425-436.
- Kim, S.K. & N. Rajapakse, 2005.** Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers* 62: 357–368
- Lamot, D.M. et al 2014.** Effects of moment of hatch and feed access on chicken development. *Poultry Science* 93, 2604-2614.
- McDonell, P. et al. 2010.** The effect of dietary laminarin and fucoidan in the diet of the weanling piglet on performance, selected faecal microbial populations and volatile fatty acid concentrations. *Animal* 4, 579-585.
- Noy, Y. et al. 2001.** The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. *Poultry Science* 80, 912-919.
- Panda et al. 2010.** Effects of post hatch feed deprivation on growth, immune organ development and immune competence in broiler chickens, *Animal Nutrition and Feed Technology* 10, 9-17.
- Reilly, P. et al. 2008.** The effects of seaweed extract inclusion on gut morphology, selected intestinal microbiota, nutrient digestibility, volatile fatty acid concentrations and the immune status of the weaned pig. *Animal* 2, 1465-1473.
- Roto, S.M. et al. 2016.** Applications of in ovo techniques for the optimal development of the gastrointestinal tract and the potential influence on the establishment of the microbiome in poultry. *Frontiers in Veterinary Science* 3, 1-13.
- Rubio, L.A. 2019.** Possibilities of early life programming in broiler chickens via intestinal microbiota modulation. *Poultry Science* 98, 695-706.
- Sweeney, T. et al. 2016.** Effects of *Ascophyllum nodosum* supplementation on *Campylobacter jejuni* colonisation, performance and gut health following experimental challenge in 10 day old chicks. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 37, 247-252.

## Del 3: Resultatförmedling

<b>Vetenskapliga publiceringar</b>	Ivarsson E., Währn, J., Boyner, M., Ellström, P. and Wall, H. 2019. <i>Inclusion of Neurospora intermedia in starter diet to broilers with immediate or delayed access to feed post hatch</i> . 22 <sup>nd</sup> European Symposium on Poultry Nutrition, Gdansk, Poland, June 10-13. Poster presentation.
	Ivarsson et al. <i>Effects of early feed access and supplementation of algae extract on growth performance, organ development, microbial composition and immune response</i> . Ett manuscript cirkulerar mellan författarna i skrivande stund. Ska skickas in till Animal under första delen av 2021.
	Wall et al. <i>Can early feed access and Neurospora intermedia biomass supplementation in starter feed support chicken robustness?</i> Ett första utkast av manuscript är på gång och kommer att submittas till Poultry Science under 2021.
	Wattrang, E., Währn, J., Ivarsson, E., Naghizadeh, M., Dalgaard, T.S. and Wall, H. 2018. White blood cell counts in Ross-308 broilers. Abstract Proc. XV Avian Immunology Research Group Meeting, Oxford, UK, September 2018, p 100. Poster presentation.
<b>Övriga publiceringar</b>	<i>Optimerad skötsel och näringsförsörjning vid kläckning för en robustare kyckling</i> . Projektinformation Institutionen för husdjurens utfodring och vård hemsida. <a href="https://www.slu.se/fakulteter/vh/forskning/forskningsprojekt/fjaderfa/optimerad-skotsel-och-naringsforsorjning-vid-klackning-for-en-robustare-kyckling/">https://www.slu.se/fakulteter/vh/forskning/forskningsprojekt/fjaderfa/optimerad-skotsel-och-naringsforsorjning-vid-klackning-for-en-robustare-kyckling/</a>
	Wall, H., Sun, L., Boyner, M., Ivarsson, E. & E. Wattrang. <i>Kläckning på gården och foder direkt</i> . Tidningen Fjäderfä nr 1 Februari 2021, sid 42-43.
<b>Muntlig kommunikation</b>	<i>Kläckning i stallet-hur påverkas kycklingen?</i> Presentation av Helena Wall vid SVAs projektråd 14-15 april 2021. Mötet skulle hållits i januari men flyttades fram på grund av pågående utbrott av fågelinfluensa.
	<b>Pågående pandemi har tyvärr begränsat möjligheterna att kommunicera resultaten vid nationella branchmöten och internationella konferenser då många planerade event skjutits på framtiden.</b>
<b>Studentarbete</b>	Anna Olsson. 2017. Foder till unga kycklingar. Examensarbete för kandidatexamen. Agronomprogrammet-husdjur. Institutionen för husdjurens utfodring och vård 609, Uppsala.
<b>Övrigt</b>	Under 2018 hölls två möten med projektets referensgrupp (telefonmöten)

2021-02-11