

Aus dem Institut für
Tierernährung und Ernährungsphysiologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Auswirkungen suboptimaler Manganversorgung auf
biochemische Parameter, Mangan-Versorgungsstatus und
Chondropoese beim Ferkel – Untersuchungen zur optimalen
Manganversorgung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
CHRISTIAN KAUER

Gießen 2005

Aus dem Institut für
Tierernährung und Ernährungsphysiologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. J. Pallauf

Auswirkungen suboptimaler Manganversorgung auf biochemische
Parameter, Mangan-Versorgungsstatus und Chondropoese beim
Ferkel – Untersuchungen zur optimalen Manganversorgung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
CHRISTIAN KAUER
Tierarzt aus Gummersbach

Gießen 2005

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

1. Berichterstatter: Prof. Dr. J. Pallauf

2. Berichterstatter: Prof. Dr. S. Kölle

Tag der mündlichen Prüfung: 03.03.2006

Für Simone

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Abbildungen.....	11
Verzeichnis der Tabellen.....	13
Verzeichnis der Anhangstabellen.....	15
Verzeichnis der Abkürzungen.....	17
<hr/>	
1	Einleitung.....19
2	Literaturübersicht.....21
2.1	Chemische Eigenschaften des Mangans.....21
2.2	Quantitativer Nachweis von Mangan.....22
2.2.1	Atomabsorptionsspektroskopie..... 22
2.2.1.1	Flammen - Atomabsorptionsspektroskopie..... 22
2.2.1.2	Graphitrohr - Atomabsorptionsspektroskopie..... 22
2.2.2	Atomemissionsspektroskopie im induktiv gekoppelten Plasma..... 23
2.2.3	Atommassenspektroskopie im induktiv gekoppeltem Plasma..... 23
2.2.4	Neutronen-Aktivierungs-Analyse..... 23
2.3	Mangan als essentielles Spurenelement.....24
2.4	Absorption.....24
2.4.1	Wahre und scheinbare Absorption..... 24
2.4.2	Interaktionen mit anderen Mineralstoffen..... 26
2.4.3	Interaktion mit weiteren Nahrungsbestandteilen..... 28
2.5	Transport im Blut.....29
2.6	Ausscheidung.....29
2.7	Funktionen des Mangans im Stoffwechsel.....31
2.7.1	Manganmetalloenzyme..... 31
2.7.1.1	Arginase..... 32
2.7.1.2	Superoxid-Dismutase..... 33
2.7.1.3	Pyruvatcarboxylase..... 34
2.7.2	Manganaktivierte Enzyme 35
2.7.2.1	Glykosyltransferasen..... 35
2.7.2.2	Weitere Enzyme..... 38
2.7.3	Gebundenes und freies Mangan in der Zelle..... 38
2.7.4	Weitere Effekte..... 38
2.7.4.1	Kohlenhydratstoffwechsel..... 38
2.7.4.2	Amylasesekretion..... 39
2.7.4.3	Lipidstoffwechsel..... 39
2.7.4.4	Nucleinsäurestoffwechsel..... 40
2.7.4.5	Signalwirkung auf Zellebene..... 40
2.8	Manganmangel und seine Symptome.....40
2.8.1	Wachstumsdepression..... 40
2.8.2	Ataxie..... 41

2.8.3	Knochenverkrümmungen.....	41
2.8.4	Sterilität.....	41
2.8.5	Histologische Befunde.....	42
2.9	Toxizität.....	42
2.10	Manganquellen für Säugetiere.....	43
2.10.1	Native Gehalte in Futtermitteln.....	43
2.10.2	Zur Ergänzung von Futtermitteln geeignete Verbindungen des Mangans.....	45
2.10.3	Manganzusatz zu Futtermitteln im Futtermittelrecht.....	45
2.10.4	Mangan in der Milch.....	46
2.11	Versorgungsstatusparameter.....	46
2.12	Mangan in der Schweineernährung.....	47
2.12.1	Untersuchungen zum Manganbedarf.....	47
2.12.2	Absorption und Exkretion.....	51
2.12.3	Manganversorgung der Ferkel in uteri.....	52
2.12.4	Mangangehalt in der Sauenmilch.....	52
2.12.5	Empfehlungen zur Manganversorgung.....	52
<hr/>		
3	Fragestellung und Versuchsdesign.....	53
4	Material und Methoden.....	55
4.1	Versuchstiere.....	55
4.2	Rationsgestaltung.....	55
4.2.1	Vormischungen.....	57
4.2.1.1	Mengenelementvormischung.....	57
4.2.1.2	Spurenelementvormischung.....	57
4.2.1.3	Vitaminvormischung.....	58
4.2.1.4	Manganzulage.....	59
4.2.2	Herstellung der Diäten.....	59
4.3	Versuchsdurchführung.....	60
4.3.1	Aufstallung.....	60
4.3.2	Klimabedingungen.....	60
4.3.3	Tränke und Fütterung.....	60
4.3.4	Wägung.....	61
4.3.5	Kot- und Urinsammlung.....	61
4.3.6	Blutentnahme.....	61
4.3.7	Schlachtung.....	62
4.3.8	Probenentnahme.....	62
4.3.9	Vermessung von Radius und Ulna.....	63
4.4	Analytische Methoden.....	64
4.4.1	Analytische Kontrolle der Futtermischungen.....	64
4.4.2	Mineralstoffanalysen.....	65
4.4.2.1	Probenaufschluss.....	66
4.4.2.1.1	Direktes Lösen.....	66
4.4.2.1.2	Trockenveraschung.....	66

4.4.2.1.3	Nassveraschung.....	67
4.4.2.1.4	Mikrowellenaufschluß.....	67
4.4.2.2	Atomemissionsspektroskopie	68
4.4.2.3	Atomabsorptionsspektroskopie.....	68
4.4.3	Blutuntersuchung.....	69
4.4.3.1	Hämatologische Untersuchung.....	69
4.4.3.2	Bestimmung der Aktivitäten von Plasmaenzymen.....	70
4.4.4	Biochemische Untersuchungen.....	71
4.4.4.1	Probenaufbereitung.....	71
4.4.4.1.1	Organhomogenate.....	71
4.4.4.1.2	Knorpelaufschluss.....	71
4.4.4.2	Proteinbestimmung	72
4.4.4.2.1	Organhomogenate.....	72
4.4.4.2.2	Knorpelaufschlüsse.....	72
4.4.4.3	Bestimmungen von Glucosaminoglykanbestandteilen.....	73
4.4.4.3.1	Uronsäure.....	73
4.4.4.3.2	Dimethylenblaureaktive Substanz.....	73
4.4.4.4	Bestimmung von Enzymaktivitäten.....	74
4.4.4.4.1	Aktivität der manganabhängigen Superoxid-Dismutase.....	74
4.4.4.4.2	Arginaseaktivität	77
4.4.4.5	Amylaseaktivität.....	78
4.4.4.6	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen.....	79
4.5	Berechnung der Manganverdaulichkeit.....	80
4.6	Statistische Auswertung.....	80

5	Ergebnisse.....	83
5.1	Versuchsdät	83
5.1.1	Inhaltsstoffe und Energie.....	83
5.1.2	Mangengehalte in den Versuchsdäten.....	83
5.2	Zootechnische Parameter.....	84
5.2.1	Lebendmasse	84
5.2.2	Futteraufnahme.....	85
5.2.3	Tägliche Zunahme.....	86
5.2.4	Futterverwertung.....	87
5.3	Befunderhebung am Schlachtkörper.....	88
5.3.1	Pathologische Veränderungen.....	88
5.3.2	Organgewichte	88
5.3.3	Maße und Gewichte von Radius und Ulna.....	89
5.4	Ergebnisse der Blutuntersuchung.....	90
5.4.1	Rotes Blutbild.....	90
5.4.2	Enzymaktivitäten im Plasma.....	95
5.5	Knorpelzusammensetzung.....	95
5.5.1	Dimethylenblaureaktive Substanz.....	95
5.5.2	Uronsäure.....	95
5.6	Mangananalysen.....	97

5.6.1	Mangangehalte in Geweben.....	97
5.6.2	Mangangehalte in der Galle.....	99
5.6.3	Mangangehalte im Kot.....	99
5.6.4	Mangangehalte im Vollblut.....	99
5.6.5	Mangangehalte in Futtermitteln sowie in Eisen- und Vitaminpräparaten für Ferkel	100
5.7	Manganaufnahme und faecale Exkretion.....	101
5.7.1	Manganaufnahme.....	101
5.7.2	Tägliche Manganausscheidung im Kot.....	102
5.7.3	Scheinbare Manganabsorption.....	102
5.8	Enzymaktivitäten.....	103
5.8.1	Manganabhängige Superoxiddismutase.....	103
5.8.2	Arginase.....	104
5.8.3	Amylase.....	105
5.9	Thiobarbitursäurereaktive Substanzen.....	105
<hr/>		
6	Diskussion.....	107
6.1	Versuchsdiät.....	107
6.2	Zootechnische Parameter.....	109
6.2.1	Futterraufnahme.....	109
6.2.2	Tägliche Zunahme.....	110
6.2.3	Futtermittelnutzung.....	112
6.3	Schlachtbefunde.....	113
6.3.1	Pathologische Veränderungen.....	113
6.4	Blutuntersuchung.....	114
6.5	Scheinbare Verdaulichkeit von Mangan.....	117
6.6	Mangangehalte in Geweben.....	119
6.6.1	Zusammenfassung der Einflüsse der Manganzufuhr auf Mangangehalte in den Organen.....	131
6.6.2	Ableitung von Referenzwerten für Mangangehalt in Leber und Niere	134
6.7	Knorpelzusammensetzung.....	135
6.8	Enzymaktivitäten.....	137
6.8.1	Manganabhängige Superoxiddismutase	137
6.8.2	Arginase.....	143
6.8.3	Amylaseaktivität in Pankreas und Plasma.....	147
6.9	Ableitung des Manganbedarfs des Ferkels.....	148
6.10	Schlussfolgerungen.....	149
<hr/>		
7	Zusammenfassung	
8	Summary	
9	Literaturverzeichnis	

Anhang.....	167
Danksagung.....	199
Lebenslauf.....	201

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1:	Struktur des Chondroitin-4-sulfats.....	36
Abbildung 2:	Aufbau der Linkregion des Chondroitinsulfates.....	36
Abbildung 3:	Anatomie von Radius und Ulna des Schweines nach NICKEL et al. (1992).....	64
Abbildung 4:	Entwicklung der Futteraufnahme der Ferkel im Versuchsverlauf.....	110
Abbildung 5:	Tägliche Gewichtszunahme der Ferkel im Versuchsverlauf (n=36).....	111
Abbildung 6:	Futterverwertung der Ferkel in den einzelnen Versuchswochen.....	113
Abbildung 7:	Entwicklung der Erythrozytenzahl in den Blutproben der Ferkel über den Versuchszeitraum.....	115
Abbildung 8:	Entwicklung der Hämoglobinkonzentration in den Blutproben der Ferkel über den Versuchszeitraum.....	116
Abbildung 9:	Entwicklung des Hämatokrits in den Blutproben der Ferkel über den Versuchszeitraum.....	116
Abbildung 10:	Manganaufnahme, -ausscheidung und scheinbar verdautes Mangan in Abhängigkeit von der Manganzufuhr der Ferkel in der 6. Versuchswoche.....	118
Abbildung 11:	Mangangehalte in Leber und Niere der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	120
Abbildung 12:	Abhängigkeit des Mangangehaltes in der Leber der Ferkel von der oralen Manganzufuhr.....	120
Abbildung 13:	Abhängigkeit des Mangangehaltes in der Niere der Ferkel von der Zufuhr.....	121
Abbildung 14:	Mangangehalte in Herz und Skelettmuskel der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Zufuhr.....	122
Abbildung 15:	Abhängigkeit des Mangangehaltes im Herzen von der oralen Zufuhr.....	123
Abbildung 16:	Abhängigkeit des Mangangehaltes im Skelettmuskel (Musculus longissimus) von der oralen Manganzufuhr.....	124
Abbildung 17:	Mangangehalte in Lunge und Knochen der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	125
Abbildung 18:	Abhängigkeit des Mangangehaltes in der Lunge von der oralen Manganzufuhr.....	125
Abbildung 19:	Abhängigkeit des Mangangehalts in der Phalanx prox. von der oralen Zufuhr.....	126
Abbildung 20:	Mangangehalte im Pankreas der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	127
Abbildung 21:	Abhängigkeit des Mangangehaltes im Pankreas von der oralen Zufuhr.....	128
Abbildung 22:	Mangan im Vollblut in Abhängigkeit von der Versuchsdauer und der Manganzulage.....	130
Abbildung 23:	Mangangehalte im Vollblut bei der Entnahme zu Versuchsende in Abhängigkeit von der Manganzulage.....	131

Abbildung 24: Uronsäuregehalt im Gelenkknorpel der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	135
Abbildung 25: Dimethylenblaureaktive Substanz im Gelenkknorpel der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	136
Abbildung 26: MnSOD-Aktivität im Herzen der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	139
Abbildung 27: Abhängigkeit der Aktivität der manganabhängigen Superoxiddismutase von der Mangankonzentration im Herzen der Ferkel.....	139
Abbildung 28: MnSOD-Aktivität im Musculus longissimus der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	140
Abbildung 29: MnSOD-Aktivität in der Lunge der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	141
Abbildung 30: MnSOD-Aktivität in der Niere der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr.....	142
Abbildung 31: Arginaseaktivität in der Leber der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr vor und nach Aktivierung durch 1 mM Mn ²⁺ im Reaktionsansatz.....	144
Abbildung 32: Relative Arginaseaktivität in der Leber der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr	145
Abbildung 33: Abhängigkeit der Arginaseaktivität von dem Mangangehalt in der Leber.....	146
Abbildung 34: Abhängigkeit der relativen Arginaseaktivität von der oralen Manganzufuhr.....	147

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1:	Mangengehalte ausgewählter Futtermittel nach DLG-Mineralstofftabellen (1973):.....	44
Tabelle 2:	Zugelassene manganhaltige Verbindungen nach Anlage 3 zur Futtermittelverordnung	46
Tabelle 3:	Untersuchungen zum Manganbedarf des Schweines.....	48
Tabelle 4:	Derzeitige Empfehlungen zur Versorgung von Ferkeln mit Mangan.....	52
Tabelle 5:	Zusammensetzung der teilsynthetischen Versuchsdiät für Ferkel.....	56
Tabelle 6:	Kalkulierte Inhaltsstoffe der Diäten.....	56
Tabelle 7:	Mengenelementvormischung für Ferkeldiät.....	57
Tabelle 8:	Spurenelementvormischung für Ferkeldiät.....	58
Tabelle 9:	Vitaminvormischung für Ferkeldiät.....	59
Tabelle 10:	Temperaturprogramm während der Versuchsphase.....	60
Tabelle 11:	Probenentnahme aus Schlachtkörper.....	63
Tabelle 12:	Heizprogramm im Mikrowellenofen für den Aufschluss von Vollblutproben.....	67
Tabelle 13:	Temperaturprogramm zur Bestimmung der Mangankonzentration in Aschelösungen mittels GFAAS.....	68
Tabelle 14:	Analysenergebnisse der Rohnährstoffe in den Versuchsdiäten und die daraus geschätzte Umsetzbare Energie	83
Tabelle 15:	Analysierte Mangengehalte in Diäten.....	84
Tabelle 16:	Körpergewichtsentwicklung der Ferkel während der Eingewöhnungsphase und während des Versuches.....	84
Tabelle 17:	Tägliche Futteraufnahme der Ferkel während des Versuches.....	85
Tabelle 18:	Tägliche Gewichtszunahme der Ferkel während der Eingewöhnungsphase und während des Versuches.....	86
Tabelle 19:	Futterverwertung der Ferkel während des Versuches.....	87
Tabelle 20:	Organgewichte von Herz, Leber und Niere der Ferkel.....	88
Tabelle 21:	Maße und Gewichte der präparierten rechten Unterarmknochen (Radius und Ulna) der Ferkel.....	89
Tabelle 22:	Erythrozytenzahlen (RBC) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten	91
Tabelle 23:	Hämoglobingehalt (HGB) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten	91
Tabelle 24:	Hämatokrit (PCV) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten	92
Tabelle 25:	Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten	92
Tabelle 26:	Mittlerer zellulärer Hämoglobingehalt (MCH) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten	93

Tabelle 27:	Mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten	93
Tabelle 28:	Retikulozytenzahl in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten	94
Tabelle 29:	Aktivitäten der Amylase und der alkalischen Phosphatase im Plasma der Ferkel am Versuchsende	95
Tabelle 30:	Zusammensetzung des Gelenkknorpels aus den Metakarpalgelenken der Ferkel.....	96
Tabelle 31:	Mangangehalte in diversen Organ- bzw. Gewebeproben der Ferkel nach Nassveraschung und Messung mittels GFAAS.....	97
Tabelle 32:	Regressionsanalytischer Zusammenhang zwischen aufgenommenem Mangan und erreichter Mangankonzentration in Organen.....	97
Tabelle 33:	Mangangehalte im Kot der Sammelphase II nach Gefriertrocknung sowie Trockenveraschung und Messung mittels GFAAS.....	99
Tabelle 34:	Mangangehalt im Vollblut gemessen mittels GFAAS	100
Tabelle 35:	Mangangehalte in zwei Stichproben von Starterfuttern für Ferkel aus dem Herkunftsbetrieb der Versuchstiere.....	101
Tabelle 36:	Mangangehalte in verschiedenen Eisenpräparaten für Ferkel.....	101
Tabelle 37:	Manganaufnahme und faecale Manganausscheidung der Ferkel sowie scheinbar absorbiertes Mangan in der Sammelphase II.....	102
Tabelle 38:	Aktivität der manganabhängigen Superoxiddismutase (MnSOD) in Herz-, Leber-, Lunge-, Muskel- und Nierengewebe der Ferkel	103
Tabelle 39:	Regressionsanalytischer Zusammenhang zwischen erreichtem Mangangehalt und gemessener Aktivität der MnSOD im Herzen.....	103
Tabelle 40:	Aktivität der Arginase im Lebergewebe der Ferkel vor und nach Aktivierung durch Mangan im Überschuss.....	104
Tabelle 41:	Regressionsanalytischer Zusammenhang zwischen erreichter Mangankonzentration in der Leber beziehungsweise aufgenommenem Mangan und gemessener relativer Arginaseaktivität in der Leber.....	104
Tabelle 42:	Amylaseaktivität im Pankreasgewebe der Ferkel	105
Tabelle 43:	Gegenüberstellung der Ergebnisse dieser Arbeit mit denen älterer Studien zum Einfluß des Diät-Mangans (mg/kg Diät) auf die Mangankonzentrationen in Organen (mg/kg FM)beim Schwein	132
Tabelle 44:	Übersicht über signifikante Gruppenunterschiede in den untersuchten Organen der Ferkel ($p < 0,05$).....	133
Tabelle 45:	Übersicht über die Regressionsanalytischen Ergebnisse in den untersuchten Organen.....	134

Verzeichnis der Anhangstabellen

Anhangstabelle 1:	Mineralstoffgehalte in ausgewählten Futterkomponenten für teilsynthetische Rationen analysiert mittels ICP-AES nach Trockenveraschung.....	167
Anhangstabelle 2:	Mangangehalte ausgewählter Mineralstoffträger und von Cholinchlorid analysiert mittels ICP-AES nach Lösen in 0,3 N HCl	168
Anhangstabelle 3:	Mangangehalte von verschiedenen Futtermitteln, Eiseninjektionslösungen und Eisen-Vitamin-Präparaten für Ferkel analysiert mittels Flammen-AAS nach Trockenveraschung.....	168
Anhangstabelle 4:	Mangangehalte in Vormischungen analysiert mittels Flammen-AAS nach Trockenveraschung.....	169
Anhangstabelle 5:	Ergebnisse der Analyse der Rohnährstoffe in den Versuchsdiäten und geschätzte metabolisierbare Energie.....	169
Anhangstabelle 6:	Mineralstoffe in teilsynthetischen Versuchsdiäten analysiert mittels ICP-AES nach Trockenveraschung.....	170
Anhangstabelle 7:	Lebendmasse der Ferkel vor Beginn der Eingewöhnungsphase und während des Versuchs	171
Anhangstabelle 8:	Tägliche Zunahmen der Ferkel in der Eingewöhnungsphase und im Versuchszeitraum.....	172
Anhangstabelle 9:	Tägliche vorgelegte Futtermenge während der Versuchsphase.....	173
Anhangstabelle 10:	Tägliche Futteraufnahme der Ferkel, jeweils als Mittelwerte der einzelnen Versuchswochen	174
Anhangstabelle 11:	Futterverwertung durch die Ferkel jeweils als Mittelwerte der einzelnen Versuchswochen und über die gesamte Versuchsdauer.....	175
Anhangstabelle 12:	Erfasste Kot- und Harnausscheidung in den Sammelphasen.....	176
Anhangstabelle 13:	Ergebnisse der Kotuntersuchung: Kottrockenmasse, im Kot enthaltenes Mangan analysiert mittels GFAAS nach Trockenveraschung sowie Manganausscheidung in der Sammelphase II.....	177
Anhangstabelle 14:	Scheinbare Verdaulichkeit von Mangan in der 6. Versuchswoche.....	178
Anhangstabelle 15:	Schlachtbefunde.....	179
Anhangstabelle 16:	Absolute und relative Gewichte von Herz, Leber und Niere.....	180
Anhangstabelle 17:	Rotes Blutbild und Thrombozyten vor Versuchsbeginn	181
Anhangstabelle 18:	Rotes Blutbild und Thrombozyten am 14. Versuchstag.....	182
Anhangstabelle 19:	Rotes Blutbild und Thrombozyten am 28. Versuchstag.....	183
Anhangstabelle 20:	Rotes Blutbild und Thrombozyten am 42. Versuchstag.....	184
Anhangstabelle 21:	Weißes Blutbild vor Versuchsbeginn.....	185
Anhangstabelle 22:	Weißes Blutbild am 14. Versuchstag.....	186
Anhangstabelle 23:	Weißes Blutbild am 28. Versuchstag.....	187
Anhangstabelle 24:	Weißes Blutbild am 42. Versuchstag.....	188
Anhangstabelle 25:	Enzyme im Plasma am 43. Versuchstag.....	189

Anhangstabelle 26: Maße und Gewichte von Radius und Ulna der rechten Vordergliedmaße zu Versuchsende.....	190
Anhangstabelle 27: Mangangehalt in Geweben zu Versuchsende, gemessen mittels GFAAS nach Naßveraschung bzw. Trockenveraschung (Knochen).....	191
Anhangstabelle 28: Mangangehalt im Vollblut zu Versuchsende, gemessen mittels GFAAS nach Mikrowellenaufschluß und Aufkonzentrierung durch Eindampfen.....	192
Anhangstabelle 29: Aktivität der Arginase im Leberhomogenat zu Versuchsende.....	193
Anhangstabelle 30: Proteingehalt in Geweben nach Bradford.....	194
Anhangstabelle 31: Aktivität der manganabhängigen Superoxid-Dismutase bestimmt nach Özer.....	195
Anhangstabelle 32: Aktivität der manganabhängigen Superoxid-Dismutase nach Özer bezogen auf Proteingehalt.....	196
Anhangstabelle 33: Zusammensetzung des Gelenkknorpels.....	197

Verzeichnis der Abkürzungen

AAS:	Atomabsorptionsspektroskopie	MCV:	mittleres Erythrozytenvolumen (mean cell volume)
ADF:	Acid detergent fibre	MnSOD:	Manganabhängige Superoxiddismutase
AES:	Atomemissionsspektroskopie	MONO:	Monozyten
<i>aqua bidest</i> :	zweifach entionisiertes Wasser	MS:	Massenspektroskopie
<i>aqua dest</i> :	entionisiertes Wasser	NADP(H):	Dihyronicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
BASO:	Basophile Granulozyten	NBT:	Nitro blue tetrazolium
BHT:	Butylhydroxytoluol	NEUT:	Neutrophile Granulozyten
CS:	Chondroitinsulfat	PAH:	Paraaminohippurat
Cu/Zn-SOD:	kupfer- und zinkabhängige Superoxiddismutase	PC:	Pyruvatcarboxylase
Cyt c:	Cytochrom c	PCV:	Hämatokrit (paket cell volume)
Cyt c _{ox} :	oxidiertes Cytochrom c	PLT:	Thrombozyten (platelets)
Cyt c _{red} :	reduziertes Cytochrom c	RBC:	Erythrozytenzahl (red blood count)
EDTA:	Ethylendiamintetraessigsäure	RETIC:	Reticulozytenzahl
EOS:	Eosinophile Granulozyten	RNA:	Ribonukleinsäure
FFM:	Futterfrischmasse	SD:	Standardabweichung (standard deviation)
FM:	Frischmasse	SDS:	Natrium-Dodecylsulfat
FMG:	Futtermittelgesetz	sGAG:	sulfatierte Glycosaminoglykane
GFAAS:	Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie	SOD:	Superoxiddismutase
GLDH:	Glutamatdehydrogenase	TBA-RS:	Thiobarbitursäurereaktive Substanz
HGB:	Hämoglobin (früher auch „HB“)	TEP:	Tetraethoxypropan
ICP-AES:	Atomemissionsspektroskopie im induktiv gekoppelten Plasma	TM:	Trockenmasse
ICP:	induktiv gekoppeltes Plasma	TRIS:	Tris(hydroxymethyl)-aminome- than
LYMPH:	Lymphozyten	WBC:	Leukozytenzahl (white blood count)
MCHC:	mittlere Hämoglobinkonzentration in den Erythrozyten (mean cell hemoglobin concentration)	XOD:	Xanthinoxidase

1 Einleitung

Mangan ist Bestandteil von verschiedenen Enzymen im tierischen Stoffwechsel. Während einige Enzyme nicht ausschließlich vom Mangan abhängig sind, funktionieren die manganabhängige Superoxid-Dismutase, die Arginase und die im Knorpel lokalisierten Galaktosyltransferasen ausschließlich unter Anwesenheit von ausreichend Mangan. Daher ist Mangan für Mensch und Tier essentiell. Es kommt im Säugerorganismus mit weniger als 50 mg/kg Körpermasse vor und wird daher definitionsgemäß zu den Spurenelementen gezählt.

Auch Pflanzen und Bakterien benötigen Mangan zur Aktivierung von Enzymen, allerdings sind es hier zum Teil andere Enzymsysteme, welche auf Mangan angewiesen sind.

Für die meisten Nutztiere existieren Empfehlungen zur Versorgung mit Mangan. Interessant ist, dass diese Angaben für die einzelnen Tierarten deutlich differieren, was bei anderen Spurenelementen nicht in diesem Maße der Fall ist. So hat Geflügel einen hohen Manganbedarf, das Schwein hingegen einen niedrigen. Bei Betrachtung verschiedener Literaturangaben fällt weiterhin auf, dass selbst die Angaben für die Tierart Schwein sehr deutlich differieren. Analysiert man die Quellen, auf deren Grundlage diese Angaben erarbeitet wurden, stellt sich heraus, dass das Ziel der zitierten Arbeiten nicht war, konkrete Bedarfszahlen zu ermitteln, sondern die Wirkung von Manganmangel und -überschuss zu untersuchen. Für eine weitere Eingrenzung des Bedarfs wurde scheinbar keine Notwendigkeit gesehen, da Mangan für den tierischen Organismus geringe Toxizität besitzt und im Gegensatz zu anderen Elementen, wie zum Beispiel Selen, eine deutliche Übersupplementierung keine negativen Einflüsse auf das Tier hat.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Auswirkungen geringer Manganversorgung auf Ferkel zu untersuchen und daraus nähere Angaben zum Manganbedarf des Ferkels abzuleiten. Dabei soll auch untersucht werden, welche Parameter geeignet erscheinen, die Manganversorgungslage von Schweinen abzuschätzen. Die Untersuchungen wurden an Ferkeln in der Aufzuchtphase durchgeführt, weil das Wachstum verglichen mit dem geringen Körpergewicht hier enorm ist und somit in dieser Phase auch mit einem relativ hohen Bedarf zu rechnen ist und Mangelerscheinungen am ehesten auftreten können.

2 Literaturübersicht

2.1 Chemische Eigenschaften des Mangans

Das Element Mangan wurde erst 1774 entdeckt, als man feststellte, dass es sich bei Braunstein nicht, wie bis dahin angenommen, um ein Eisenerz handelte, sondern um ein Erz eines bis dato unbekanntes Elements (TRUEB 1996).

Der Name Mangan leitet sich vom lateinischen *magnesia nigra* ab. Diese Bezeichnung hat keinen Bezug zum Magnesium, wie man unwillkürlich vermuten möchte, sondern geht auf Vorkommen von Braunstein in der Nähe der Stadt Magnesia in Klein-Asien zurück (SCHRÖTER et al. 1985).

Mangan ist der Namensgeber der VII. Nebengruppe im Periodensystem der Elemente. Es besitzt eine Kernladungszahl von 25 und eine relative Atommasse von 54,94. Es kann die Wertigkeiten von +1 bis +7 annehmen, wobei +1 und +5 nur experimentell erzeugt werden können. Die Wertigkeiten +2 bis +4 bilden Basen, die Wertigkeiten +4 bis +7 Säuren. Die Mangan(II)-Verbindungen sind überwiegend rosa, Mangan(III)-Verbindungen schwarzbraun, Mangan(IV)-Verbindungen braun-violett, Mangan(VI)-Verbindungen grün und Mangan(V)-Verbindungen blau (FALBE und REGNITZ 1998). Metallisches Mangan ist stahlgrau, läuft an der Luft aber bräunlich an. Es schmilzt bei 1246°C und siedet bei 2061°C. Die spezifische Dichte beträgt 7,47 g/cm³ (TRUEB 1996).

Während in der Natur keine Isotope des Mangans vorkommen, lassen sich Isotope mit Massenzahlen von 49 bis 62 und Halbwertszeiten zwischen 0,283 s – 3,7 10³ a künstlich herstellen (FALBE und REGNITZ 1998).

Mangan ist das vierzehnt häufigste Element und ist nach Eisen das zweit häufigste Schwermetall in der Erdkruste. Meistens sind Eisen und Manganvorkommen vergesellschaftet, doch existieren auch isolierte Manganvorkommen. Typische Manganminerale sind der Braunstein (MnO₂), Manganit oder Braunmanganerz (MnO(OH)), Braunit (3Mn₂O₃ x MnSiO₃), Hausmannit (Mn₃O₄) und Manganspat (MnCO₃), der auch Himbeerspat oder Rhodochsint genannt wird (SCHRÖTER et al. 1985). Im Boden schwanken die Gehalte je nach Gegend und Bodentyp von 40 – 900 mg Mn/kg (BARCELOUX 1999).

Obwohl organische Verbindungen des Mangans, also Verbindungen in denen das Mangan kovalent gebunden ist, künstlich hergestellt werden können, kommen in biologischen Systemen lediglich metalloorganische Komplexe vor, in denen Mangan nicht kovalent gebunden vorliegt (FALBE und REGNITZ 1998).

2.2 Quantitativer Nachweis von Mangan

Trotz des reichlichen Vorkommens des Mangans auf der Erde, hat man es in biologischen Probenmaterialien (Gewebeproben, Trinkwasser, Nahrungs- und Futtermitteln) mit geringen Gehalten zu tun, deren Nachweis und Quantifizierung nur mittels aufwendiger Messtechnik möglich ist. Heute sind die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS), die Atomemissionsspektroskopie (AES) sowie die Atommassenspektroskopie (MS) und noch in begrenztem Umfang die Neutronenaktivierungsanalyse relevante Verfahren.

2.2.1 Atomabsorptionsspektroskopie

Bei der Atomabsorptionsspektroskopie wird die Fähigkeit der Metallatome, Licht mit einem spezifischen Bandenmuster zu absorbieren genutzt. Dieser Effekt setzt voraus, dass die Atome in der Gasphase vorliegen. Nach der Art der Wärmeerzeugung zur Herstellung der Gasphase unterscheidet man Flammen- und Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (SKOOG und LEARY 1996).

2.2.1.1 Flammen - Atomabsorptionsspektroskopie

Bei der Flammen-AAS werden die hohen Temperaturen durch Verbrennung von Acetylen und reinem Sauerstoff erreicht. In diese Flamme wird die vernebelte Probenlösung eingespritzt. Der Lichtstrahl eines Photometers durchquert die Flamme und seine Intensität bei einer spezifischen Wellenlänge wird proportional zur Mangankonzentration der Probenlösung absorbiert. Die Probe muss hierzu als veraschte (also anorganische) und gelöste Probe vorliegen. Die Nachweisgrenze für Mangan liegt hier bei 2 µg/l (SKOOG und LEARY 1996).

2.2.1.2 Graphitrohr - Atomabsorptionsspektroskopie

Bei der Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (GFAAS = graphite furnace AAS) erfolgt die Aufheizung elektrisch. Die Probe wird hier in ein kleines Graphitrohr pipettiert. Das Graphitrohr wird anschließend von einem starken elektrischen Strom durchflossen. Durch den elektrischen Widerstand des Rohres erwärmt es sich. Temperaturen zwischen 2000 und 3000 °C können so gezielt angesteuert werden. Das benötigte Probenvolumen beträgt hier nur ein Bruchteil dessen, was in eine Flamme eingespritzt werden muss. Obwohl das Graphitrohr an beiden Enden offen ist, bildet sich für die Messzeit von 2-3 Sekunden eine stabile Gasphase im Rohr. Die Präzision kann gegenüber dem Flammen-AAS auch dadurch gesteigert werden, dass Interferenzen durch Elemente mit anderem Siedepunkt weitgehend eliminiert werden können. Elemente die früher in die Gasphase übergehen als das gesuchte, können während der Aufheizphase mittels eines Gases, typischerweise Argon, aus dem Rohr ausgeblasen werden und stören so den Messvorgang nicht mehr. Aufgrund

der hohen Temperatur und der Begasungsmöglichkeit müssen die Proben nicht unbedingt verascht vorliegen. Eine Veraschung kann vor der eigentlichen Messung im Rohr erfolgen, so dass mit modernen Apparaturen sogar Feststoffe in das Rohr eingebracht werden können. Die Nachweisgrenze beträgt hier für Mangan 0,2 ng/l (SKOOG und LEARY 1996).

2.2.2 Atomemissionsspektroskopie im induktiv gekoppelten Plasma

Die Atomemissionsspektroskopie beruht auf dem umgekehrten Effekt der AAS. Atome emittieren nach einer Anregung Licht mit einem spezifischen Spektrum. Zur Anregung werden extrem hohe Temperaturen benötigt. Diese werden erreicht, indem durch ein Magnetfeld Energie auf Argon übertragen wird, welches sich auf bis zu 10 000 °C erhitzt. In dieses induktiv gekoppelte Argonplasma (ICP) wird die zu untersuchende Probenlösung als Nebel eingebracht. Das emittierte Licht kann über einen Photodetektor aufgefangen und quantifiziert werden. Vorteil dieser Technik ist, dass sich in einem Messvorgang verschiedene Elemente bestimmen lassen. Die Nachweisgrenze für Mangan liegt mit dieser Methode bei 60 ng/l (SKOOG und LEARY 1996).

2.2.3 Atommassenspektroskopie im induktiv gekoppeltem Plasma

Voraussetzung für die Atommassenspektroskopie ist das Vorliegen eines Plasmas, welches die zu messenden Elemente in ionisierter Form enthält. Diese Ionisation kann wiederum durch ein induktiv gekoppeltes Argonplasma erreicht werden. Die positiven Atomkerne werden zunächst in einem elektrischen Feld beschleunigt und dann durch ein Magnetfeld von ihrer Bahn abgelenkt. Die Stärke der Ablenkung hängt von ihrem Atomgewicht ab. Somit kann eine Differenzierung der Atome bis auf die Ebene verschiedener Isotope erfolgen. Mit dieser Technik können Nachweisgrenzen im Bereich von 1-60 ng/l erreicht werden.

2.2.4 Neutronen-Aktivierungs-Analyse

Bei der Neutronen-Aktivierungs-Analyse wird die zu untersuchende Probe von einer starken Neutronenquelle bestrahlt. Durch diesen Beschuss entstehen Isotope der in der Probe enthaltenen Elemente. Deren Zerfall führt zur Emission von Gammastrahlung mit spezifischem Spektrum, welches durch ein Gammaskpektrometer erfasst werden kann. Vorteil dieser Technik ist die hohe Sensitivität und die geringe Interferenz durch die Probenmatrix. Die Probe muss für dieses Verfahren weder verascht noch anderweitig bearbeitet werden. Demgegenüber stehen sehr hohe Kosten und der als kritisch zu bewertende Einsatz von Radioaktivität. Die Nachweisgrenze für Mangan liegt bei dieser Methode bei 5 ng pro Probe (SKOOG und LEARY 1996).

2.3 Mangan als essentielles Spurenelement

Die Notwendigkeit des Mangans für Tiere wurde bereits um 1930 nachgewiesen. Man wusste damals bereits, dass Mangan für Pflanzen essentiell ist. Folglich wurde empirisch mit Mangeldiäten untersucht, ob Mangan für tierisches Leben ebenfalls notwendig ist. Der Beweis der Essentialität gelang in etwa zeitgleich bei Ratte (KEMMERER et al. 1931) und Maus (ORENT und McCOLLUM 1931). Nachdem dieser Beweis erbracht war, konnte kurze Zeit später die Perosis beim Geflügel mit Manganmangel assoziiert werden (WILGUS et al. 1936) und auch bei den anderen landwirtschaftlichen Nutztieren wurde begonnen, die Bedeutung des Mangans zu erforschen. Mit einem Vorkommen im Tierkörper von weniger als 50 mg/kg Körpermasse gehört es in die Klasse der Spurenelemente.

2.4 Absorption

Die Absorption des Mangans findet im Dünndarm statt. Die Absorbierbarkeit ist im Allgemeinen gering und wird im Mittel mit 3-4% des aufgenommenen Mangans angegeben (KEEN et al. 1984). Obwohl eine Homöostase durch Regulation der Absorption an der Darmschleimhaut postuliert wurde (ABRAMS et al. 1976), ist dieser Transport auch heute noch nicht bis auf Ebene einzelner Transportproteine untersucht. Anhand von *in vivo* Perfusionsversuchen an isolierten Dünndarmabschnitten konnte eine hohe Affinität des Transportsystems zu Mangan, aber nur eine geringe Transportkapazität nachgewiesen werden (GARCIA-ARANDA et al. 1983).

Bei Neugeborenen ist die Manganabsorption höher als bei erwachsenen Individuen. Es handelt sich hierbei um eine Steigerung des transzellulären Transportes, der wahrscheinlich aktiv stattfindet. Daher kann die hohe Absorptionsrate nicht mit der höheren Durchlässigkeit der tight-junctions beim Neonaten und damit mit parazellulärem Transport erklärt werden (LÖNNERDAL et al. 1987, KIES 1994).

Deutlichen Einfluss auf die Manganverwertung haben der Eisenversorgungsstatus und die Eisenkonzentration im Chymus. Hohe Eisengehalte im Chymus führen zu deutlich reduzierter Manganverwertung (siehe 2.4.2).

2.4.1 Wahre und scheinbare Absorption

Der Zielparameter von Untersuchungen zur Verwertbarkeit ist die wahre Absorbierbarkeit. Dies ist die Menge eines Mineralstoffes, die effektiv dem Chymus entzogen werden kann. Dieser Wert ist einfach zu bestimmen, wenn der Mineralstoff ausschließlich absorbiert wird und nicht über Verdauungssekrete wieder in das Darmlumen abgegeben wird oder sogar einem enterohepatischen Kreis-

lauf unterliegt. Beides ist bei Mangan der Fall. Der Absorption im Dünndarm steht die Ausscheidung durch die Galle gegenüber. Im Kot lässt sich daher ausgeschiedenes und nicht verwertetes Mangan mittels chemischer Methoden nicht differenzieren.

Diesem Problem kann durch den Einsatz von radioaktiven Tracern, zum Beispiel ^{54}Mn , begegnet werden. Die Retention einer einzelnen Mangangabe und deren Verbleib in den einzelnen Körpergeweben lassen sich so erfassen. Da ein Teil des absorbierten ^{54}Mn aber sofort wieder ausgeschieden wird („first-pass-effect“ in der Leber), wird allerdings auch hier die Verfügbarkeit leicht unterschätzt. Mit radioaktiven Isotopen kann ebenfalls der zeitliche Ablauf der Ausscheidung einer parenteralen Tracergabe bzw. deren biologische Halbwertszeit im Tier erfasst werden. Beim Mangan erfolgt die so ermittelte Ausscheidung zweiphasig, unabhängig davon, ob einmalige Dosen oral oder parenteral zugeführt werden. Der erste Teil wird schnell ausgeschieden, der Rest relativ langsam. Die schnelle Ausscheidungsphase wird auf die „first-pass“-Eliminierung von Überschüssen durch die Leber zurückgeführt, die langsame Phase auf eine Manganmenge, welche sich in einem Kreislauf aus Exkretion in der Leber und Resorption im Darm befindet. Da dieser Kreislauf jedoch verlustbehaftet ist, kommt es zu einer langsamen Ausscheidung.

Verschiedene Ansätze wurden ausprobiert um trotz dieser Umstände die wahre Verfügbarkeit des Mangans näher zu bestimmen. Im folgenden werden die relevanten Verfahren kurz gegenübergestellt:

Die Exkretion endogenen Mangans kann mittels der Radioisotopenverdünnungsmethode bestimmt werden. Hierzu werden Versuchstiere an ein Futter adaptiert und erhalten dann eine einmalige Injektion mit ^{54}Mn . Die Verdünnung im Körper wird bestimmt, indem in einem Referenzgewebe Mn und ^{54}Mn analysiert werden. Dieses Verhältnis trifft auch für das ausgeschiedene Mangan zu, also kann durch die Bestimmung der Kot-Radioaktivität der endogene vom alimentären Mangananteil differenziert werden. Wird parallel durch eine Bilanzierung des Mangans die scheinbare Absorption bestimmt, lässt sich schließlich die wahre Absorption berechnen (WEIGAND et al. 1986a, 1986b).

Ein alternativer Ansatz ist die vergleichende Isotopenbilanz. Hierzu werden Paare von Versuchstieren benötigt. Beide Individuen eines Paares erhalten die gleiche Isotopendosis verabreicht, jedoch auf unterschiedliche Applikationsart, einmal oral und einmal intramuskulär. Der Quotient aus Retention nach oraler und intramuskulärer Gabe stellt die wahre Absorption dar. Eine Bilanzierung des nicht markierten Mangans ist hierbei nicht erforderlich. Die so bestimmten Werte stimmen weitgehend mit denen der Isotopenverdünnungsmethode überein (WEIGAND et al. 1986a).

Eine weitere Möglichkeit, die wahre Absorption und die Ausscheidung des Mangans zu messen, beschreiben FINLEY et al (1997). Sie implantierten Schweinen jeweils einen Katheter in Vena porta, Vena ilei, Vena jugularis, Ductus choledochus und ins Duodenum. Durch den Katheter in der Vena ilei wurde nun Paraaminohippurat (PAH) mit konstanter Rate zugeführt. Aus der Vena porta wurde Blut entnommen und die PAH-Konzentration bestimmt und über dessen Verdünnung der Blutfluss in der Vena porta errechnet. Die Verfolgung des Mangans erfolgte auch hier mit ^{54}Mn . Durch Messung der ^{54}Mn -Aktivität und des Blutdurchflusses der Vena porta konnte die absorbierte Menge Mangan berechnet werden. Schließlich wurde durch den Katheter im Ductus choledochus die Galle quantitativ nach außen geführt. So ließ sich wiederum Gallefluss und ^{54}Mn -Aktivität analysieren und die ausgeschiedene Manganmenge errechnen. Durch den Katheter im Duodenum wurde die Galle wieder der Verdauung zugeführt. Versuche über einen längeren Zeitraum ohne Beeinflussung der Verdauung sollten so möglich sein. Obwohl dieser Ansatz sehr interessant erscheint, waren die Ergebnisse doch wenig befriedigend. Die Untersuchungen liefen 12 Tage lang, wobei die ersten 6 Tage als Rekonvaleszenzphase betrachtet wurden und somit eine 6 tägige Experimentalphase resultierte. Es wurden hier lediglich Absorptionen von 0,5% des oral zugeführten Mangans gefunden. Es konnte nur wenig in der Galle wiedergefunden werden. Auch in den Organen, mit Ausnahme des Dünndarms, wurde nach der Schlachtung nur wenig des ^{54}Mn wiedergefunden. FINLEY et al. (1997) postulieren daher eine Einlagerung in die Enterozyten und konsekutiv eine scheinbare Ausscheidung im Rahmen der Zellmauserung. Mit als ein Grund für die schlechte Verwertung des ^{54}Mn werden auch die hohen zugeführten Eisenkonzentrationen mit 200 – 400 mg Fe/kg Futter angesehen.

2.4.2 Interaktionen mit anderen Mineralstoffen

Wie bei anderen Mineralstoffen auch, kann die Verwertung des Mangans durch exzessive Gabe oder durch Mangel eines anderen Elementes beeinflusst werden. Die deutlichsten Interaktionen zeigt oral zugeführtes Mangan mit dem in der Nahrung enthaltenen Eisen. Hohe Eisengaben senken die Manganverwertung und umgekehrt.

Im Falle von erhöhtem Eisenbedarf, also bei einer Anämie oder deren Vorstufe, bei der lediglich die latente Eisenbindungskapazität im Blut erhöht ist, wird die Eisenabsorption aus dem Darm gesteigert - somit konsekutiv auch die Manganverwertung. Es ist daher davon auszugehen, dass Mangan und Eisen, zumindest teilweise, über die gleichen Transportsysteme durch die Darmwand transportiert werden. Daher sind sowohl die gegenseitige Verdrängung vom Transporter als auch die Abhängigkeit der Manganresorption vom Eisenversorgungsstatus plausibel (DIEZ-EWALD et al. 1968, THOMSON et al. 1971, KOSITAL et al. 1980, DAVIS et al 1990, BAKER und HALPIN 1991, FINLEY et al. 1999). Dass diese Interaktion auch von praktischer Relevanz ist, zeigt ein ak-

tueller Bericht von FÜRLL et al. (2004), nach dem sich ein Manganmangel in einer Rinderherde trotz ausreichender Mangangehalte im Futter manifestieren konnte, weil überhöhte Eisengehalte im Trinkwasser die Manganabsorption deutlich einschränkten. Diese Konkurrenz muss schon auf der apikalen Seite der Enterozyten stattfinden, da zum einen bei steigendem Eisengehalt im Futter die Mangankonzentration in den Enterozyten sinkt, zum anderen auch mit steigendem Mangangehalt im Chymus die Eisenkonzentration in den Enterozyten sinkt (DAVIS et al. 1992a). Da mit der Nahrung zugeführtes Hämeisen über einen anderen Weg durch die Mukosa gelangt, tritt die Verdrängung vom Transporter bei überwiegender Hämeisenzufuhr nicht auf (DAVIS et al. 1992b).

Forschungsergebnisse zur Interaktion von Calcium und Phosphor mit Mangan sind sehr uneinheitlich. So wurde in einigen Versuchen festgestellt, dass vor allem beim Geflügel höhere Gaben von Calcium die Manganverwertung senken, in anderen Fällen aber sogar zu einer Verbesserung der Verwertung führen (WILGUS und PATTON 1939). Neuere Studien hingegen belegen, dass vielmehr eine unausgeglichene Phosphorversorgung hemmend auf die Manganverwertung wirkt (WEDEKIND und BAKER 1990a, WEDEKIND und BAKER 1990b, SCHEIDELER 1991, WEDEKIND et al. 1991a, BAKER und ODUHO 1994). Allerdings gab es auch Experimente, in denen unter solchen Bedingungen zwar signifikante Effekte für andere Spurenelemente auftraten, Mangan jedoch unbeeinflusst blieb (GREGER und SNEDEKER 1980, SCHEIDELER 1991, WEDEKIND et al. 1991a). Der Einfluss von Calcium auf den Manganmetabolismus beschränkt sich nicht nur auf die Absorption, sondern beeinflusst auch die Manganausscheidung. So wurde in einem Experiment von LASSITER et al. (1972) eine parenteral zugeführte ^{54}Mn -Dosis bei niedriger Calciumversorgung deutlich schneller ausgeschieden als bei adäquater.

Auch für weitere Mineralstoffe werden Interaktionen mit Mangan auf Ebene der Absorption diskutiert. So für Magnesium (KIES 1994), Kupfer (KIRCHGESSNER und HEISEKE 1977) und Zink (ADEOLA et al. 1995). Eine mögliche Erklärung könnte ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der einzelnen Mineralstoffe und dem resultierenden pH-Wert im Chymus sein, welcher letztlich Einfluss auf die Absorption haben könnte (KIES 1994).

Innerhalb des Organismus sind hingegen kaum Interaktionen zwischen Mangan und anderen Mineralstoffen bekannt. So zeigten COTZIAS und GREENOUGH (1958) an Mäusen, welche parenterale Gaben von ^{54}Mn und zeitversetzt dazu verschiedene weitere Metalle erhielten, dass weder Magnesium, Chrom, Eisen, Cobalt, Nickel noch Zink Einfluss auf die Ausscheidung des Radiomangans hatten. Wurde hingegen bei der zweiten Injektion inaktives Mangan injiziert, kam es zu einer gesteigerten Ausscheidung des ^{54}Mn und zu einer Umverteilung innerhalb des Körpers, weg von Leber und Magendarmtrakt in Muskulatur und Knochen.

Obwohl *in vitro* Mangan in seinen Funktionen zumindest teilweise durch Magnesium und Eisen ersetzt werden kann (siehe 2.7), scheint es unter physiologischen Bedingungen nicht zur Verdrängung von Mangan durch diese Elemente zu kommen. Im Gegenteil scheint Mangan selbst bei Fütterung in physiologischen Dosen aber suboptimaler Magnesiumversorgung, Mg^{2+} aus dem Herz verdrängen zu können, was unter experimentellen Bedingungen bis zur Herzmuskelnekrose führte (MILLER et al. 2000).

2.4.3 Interaktion mit weiteren Nahrungsbestandteilen

Während bekannt ist, dass sich mehrfach ungesättigte Fettsäuren negativ auf die Eisenverfügbarkeit auswirken, fanden FINLEY und DAVIS (2001) für Mangan das Gegenteil heraus. Unabhängig davon ob die Ration manganarm oder -reich war, wurde aus linolsäurereichem Futter mehr Mangan absorbiert und retiniert, als dies bei einer stearinsäurereichen Ration der Fall war.

Auch Kohlenhydrate vermögen die Verfügbarkeit von Mangan zu beeinflussen. So wird aus saccharosereichen Futtermitteln Mangan besser absorbiert und retiniert als aus stärkereichen (LEE und JOHNSON 1988).

Die Anwesenheit von Liganden wie Histidin, Citrat oder Ascorbat können die Mangantransportrate durch die Darmschleimhaut *in vitro* deutlich erhöhen (GARCIA-ARANDA et al. 1983, KIES 1994). Trotzdem konnte Citronensäure als Additiv im Schweinefutter die Mn-Retention nicht verbessern (HÖHLER und PALLAUF 1994).

Am Menschen wurde eine starke Hemmung der Manganabsorption durch Tannine gefunden. Tannine sind pflanzliche Polyphenole, deren besondere Eigenschaft es ist, mittels mehrerer Hydroxylgruppen Proteine vernetzen zu können. Der Zusammenhang zwischen Mangan und Tanninen wurde entdeckt, als beobachtet wurde, dass die hohen Mangangehalte, welche in grünem Tee enthalten sind, fast ungenutzt wieder ausgeschieden werden. Diese absorptionshemmenden Eigenschaften bleiben auch nach Fermentation noch im schwarzen Tee erhalten, wenn auch nicht mehr in solch deutlichem Umfang (KIES 1994). Die Tannine stellen eine größere Gruppe von verschiedenen Verbindungen dar, welche in unterschiedlichem Maße in Pflanzen vorkommen. Von den Futtermitteln enthalten vor allem die Leguminosen, Raps, Milokorn aber auch Gerste Tannine. In der Tierernährung fand in der Vergangenheit überwiegend die hemmende Wirkung der Tannine auf die Proteinverdaulichkeit Beachtung (JEROCH et al. 1999).

Der Einfluss der Phytinsäure auf die Verfügbarkeit des Mangans ist geringer als dies bei anderen Mineralstoffen der Fall ist. So konnte gezeigt werden, dass ein Zusatz von Phytase zur Ration die Manganverwertung kaum beeinflusst (PALLAUF et al. 1992, WINDISCH und KIRCHGESSNER

1996). Diese Erkenntnis deckt sich auch mit *in vitro* Studien, in denen für Mn^{2+} eine deutlich geringere Affinität zu Phytinsäure als bei Ca^{2+} und Zn^{2+} gefunden wurde (KRATZER und VOHRA 1986). Es ist davon auszugehen, dass *in vivo* die Bindungsstellen der Phytinsäure vorwiegend durch die höher konzentrierten Mineralstoffe besetzt sind.

2.5 Transport im Blut

Schon im Anfang der Forschung zur physiologischen Bedeutung des Mangans war schnell entdeckt, dass Mangan im Blut zum Teil an Proteine gebunden vorliegt. Man benannte daher das Protein, das die größte Bedeutung hatte, „Transmanganin“ in Anlehnung an das Transferrin als eisenbindendes Protein. Später stellte sich allerdings heraus, dass Transmanganin und Transferrin beide dasselbe Protein darstellen und lediglich mit unterschiedlichen Metallen beladen sind (SCHEUHAMMER und CHERIAN 1985). Auch Albumin wurde eine Mangantransportfunktion zugesprochen (NANDEDKAR et al. 1973), doch wurde mittlerweile erkannt, dass diese Erkenntnis eine Fehlinterpretation aufgrund unzureichender chromatographischer Trennung von Transferrin und Serumalbumin war (DAVIDSON et al. 1989). Da die Bindung an Transferrin als Mn^{3+} erfolgt, ist zur Bindung jedoch noch eine Oxidation erforderlich (AISEN et al. 1969). Diese Oxidation benötigt ein alkalisches Milieu (SCHEUHAMMER und CHERIAN 1985). Es wird jedoch davon ausgegangen, dass im Blut Coeruloplasmin an der Oxidation beteiligt ist und die Oxidation auch bei neutralem pH ermöglicht (GIBBONS et al. 1976).

Neben der Bindung an Transferrin wurde auch eine Bindung an α_2 -Makroglobulin nachgewiesen (GIBBONS et al. 1976). Diese Bindung erfolgt als Mn^{2+} und ist daher einfacher und schneller möglich als die Transferrinbindung. GIBBONS et al. (1976) gehen davon aus, dass α_2 -Makroglobulin Bedeutung beim Transport vom Darm zur Leber hat, wo überschüssiges Mangan ausgeschieden wird und benötigtes Mangan auf Transferrin übertragen und wieder dem Blutkreislauf zugeführt wird.

2.6 Ausscheidung

Die Ausscheidung des Mangans erfolgt überwiegend mit der Galle. Die Menge des mit der Galle ausgeschiedenen Mangans ist umso höher, je besser das Tier mit Mangan versorgt ist (MALEKI et al 1996). Die Sekretion von intravenös verabreichtem Mangan erreicht schon nach 10 min ein Maximum. Bei anderen Metallen, wie zum Beispiel Kupfer und Cadmium wird dies erst nach mehr als 20 Minuten erreicht (SUGAWARA et al 1994, SUGAWARA et al 1996).

Durch die Galle ausgeschiedenes Mangan kann im Dünndarm wieder uneingeschränkt resorbiert werden (enterohepatischer Kreislauf). Daher wird nach einmaliger intravenöser Gabe von Mangan eine zweiphasige Ausscheidung beobachtet. Die zweite Phase wird auf Mangan zurückgeführt, welches bereits mindestens einmal rezykliert wurde (BERTINCHAMPS et al. 1966).

Die Ausscheidung über die Leber in die Galle ist selektiv. Während freies Mn^{2+} oder an α_2 -Makroglobulin gebundenes injiziertes Mangan sehr rasch in die Galle gelangt, erscheint an Transferrin gebunden injiziertes Mn^{3+} dort nur in geringerem Umfang (GIBBONS et al. 1976). Die Ausscheidung erfolgt nicht gleichmäßig über den Tag verteilt. KIRCHGESSNER et al. (1990) fanden beim Schwein nachts einen deutlichen Mn-Konzentrationsanstieg in der Galle. In dessen Folge fand der überwiegende Teil der Manganausscheidung zwischen zwei Uhr und neun Uhr morgens statt.

Die Bedeutung der Ausscheidung durch die Galle für die Homöostase im Körper zeigen auch klinische Beobachtungen an Patienten mit Cholestase unterschiedlicher Genese. Hier konnten erhöhte Blutmangangehalte bis hin zu Symptomen von Mangantoxizität beobachtet werden. Besonders gefährdet sind Patienten, die während der Cholestase parenteral mit manganhaltigen Infusionslösungen ernährt werden (FINLEY und DAVIS 1999). Doch auch ohne Cholestase sind langfristige Infusionen mit typischen Tagesdosen von 0,5 mg Mn als kritisch zu betrachten, da auch hier steigende Blutmangangehalte beobachtet werden können (FITZGERALD et al. 1999).

Über den Mechanismus der Exkretion ist noch wenig bekannt. Zunächst wurde ein passiver Transport in die Galle, gefolgt von einer Komplexierung im Lumen der Gallengänge angenommen (TICHY und CIKRT 1972). Dieser passive Transport kann aber nicht der alleinige Mechanismus sein, da die Mn-Konzentration von Plasma über Leberzellcytosol hin zur Galle stark ansteigt (KLAASSEN 1974). Mittlerweile existieren Ansätze, Absorption und Exkretion in der Leber anhand von Zellkulturen zu untersuchen, allerdings führen auch diese bislang nicht zu entscheidenden Erkenntnissen über den Transportmechanismus und dessen Regulation (FINLEY 1998).

Die Fähigkeit zur Manganausscheidung über die Galle entwickelt sich erst nach der Geburt. Dies zeigt sich besonders deutlich bei der Ratte, die postnatal sehr empfindlich gegenüber hohen Mangandosen ist. Bei Mensch und Schwein wird diese Gefahr eher als gering eingestuft (KIES 1994).

Die Ausscheidung durch die Galle ist aber nicht der einzige Weg der Ausscheidung, da trotz einer Ligation des Ductus choledochus eine Ausscheidung nachgewiesen werden kann (PAPAVASILIOU et al. 1966). Auch über das Pankreassekret wird Mangan ausgeschieden. Hierbei scheint es sich allerdings um unregelmäßige Ausscheidung in Vergesellschaftung mit den Verdauungsenzymen

zu handeln, da die Manganausscheidung in Folge von Fütterungen in Gesellschaft mit erhöhter Proteinsekretion im Pankreassekret beobachtet wurde (BURNET et al. 1952). Über weitere und vor allem aktuellere Studien zu dieser Thematik ist nichts bekannt.

In Darmepithel von Duodenum und Jejunum kann darüber hinaus Mangan angereichert werden. Infolge der Epithelmauserung kommt es so zur scheinbaren Sekretion in den Chymus (BERTINCHAMPS et al. 1966). FINLEY und MONROE (1997) konnten zudem einen aktiven Transport von basolateral nach apikal in einer Enterozytenkultur aufzeigen. Inwieweit diese Ausscheidung jedoch einer Homöostase dient und *in vivo* von Bedeutung ist, ist zur Zeit noch nicht bekannt.

Geringe Mengen Mangan werden auch über den Urin ausgeschieden, doch ist dies als ein unabdingbarer Verlust anzusehen. Außer in extremen Mangelsituationen, wo die Mangankonzentration im Urin abfällt, wird die Konzentration kaum durch die Manganversorgung beeinflusst (KAYONGO-MALE et al. 1975, KAYONGO-MALE 1980, RHEAUME und CHAVEZ 1989).

2.7 Funktionen des Mangans im Stoffwechsel

Die Essentialität des Mangans wird durch seine Notwendigkeit für bestimmte Enzyme bedingt. Diese Enzyme können in zwei Gruppen eingeteilt werden:

→ Metalloenzyme

→ metallaktivierte Enzyme

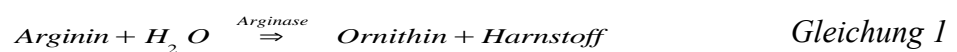
In Metalloenzymen ist das Metall relativ fest an das Proteingerüst gebunden, es stabilisiert die Tertiärstruktur oder bildet ein aktives Zentrum in dem es an Redoxprozessen beteiligt ist. Wird das Metall vom Protein gelöst, geht in der Regel die enzymatische Aktivität irreversibel verloren. Bei den metallaktivierten Enzymen liegt keine Bindung an das Proteingerüst des Enzyms vor. Das Metallion muss lediglich in der richtigen Oxidationsstufe anwesend sein oder mit dem Substrat einen Komplex bilden. Allerdings ist eine Abgrenzung nicht immer einwandfrei möglich, da die Übergänge fließend sind, weil auch innerhalb eines Enzymes beide Effekte auftreten können (McEUN 1981, KEEN et al. 1984, PETRIDES 1997).

2.7.1 Manganmetalloenzyme

Beim Säuger sind nur wenige Manganmetalloenzyme beschrieben worden. Dies sind die Arginase, die manganabhängige Superoxiddismutase (MnSOD) und die Pyruvatcarboxylase.

2.7.1.1 Arginase

Die Arginase (EC 3.5.3.1) katalysiert die hydrolytische Abspaltung des Harnstoffes vom Arginin (Gleichung 1). Sie ist tetramer aufgebaut und besitzt ein Molekulargewicht von 120 kDa. Im aktivierten Zustand hat sie 4 Mn^{2+} gebunden. Hauptsächlich kommt die Arginase in der Leber vor und ist dort im Cytosol lokalisiert. Selbst mit nur zwei gebundenen Molekülen Mn^{2+} ist noch 50% der Aktivität vorhanden (KEEN et al. 1984). *In vitro* ist auch eine Aktivierung durch Co^{2+} und Ni^{2+} möglich, diese scheint jedoch *in vivo* nicht statt zu finden, da Nickel nicht in ausreichender Konzentration in der Leber retiniert wird und Kobalt nicht frei im Cytosol vorliegt (REHNER und CREMER 1970, REHNER und STELTE 1970).



Verschiedene Untersuchungen zeigen ein deutliches Abnehmen der Arginaseaktivität in der Leber im Manganmangel (SHILS und MCCOLLUM 1943, ELLIS et al. 1947, KIRCHGESSNER und HEISEKE 1977, KIRCHGESSNER und HEISEKE 1978, MASTER et al. 1988, PRZYBILLA und PALLAUF 1991). Die Abnahme der Aktivität im Mangel kann *in vitro* durch Zugabe von Mn^{2+} wieder hergestellt werden (BOYER et al. 1942, REHNER und CREMER 1970, PAYNTER 1980). Nach Erkenntnissen von ROSEBOUGH et al. (1987) liegt ein Großteil des Lebermangans an Arginase gebunden vor. Die Regulation der *in vivo* Aktivität scheint nicht nur durch Variation der Expression erreicht zu werden sondern auch durch Variation des Mangangehaltes im Cytosol. Hierfür spricht die Beobachtung, dass bei steigender Harnstoffsynthese die Arginaseaktivität sowie der Lebermangangehalt steigen, aber immunologisch kaum mehr Arginaseprotein nachweisbar ist (BOND et al. 1983, ROSEBOUGH et al. 1987).

In der Humanmedizin konnte das Symptom der Hyperargininämie mit einem Fehlen der Arginaseaktivität in Verbindung gebracht werden. Hierbei handelt es sich nicht um das Fehlen des Enzyms an sich, sondern um eine Punktmutation, in deren Folge die Fähigkeit des Apoenzyms, Mangan zu binden, um über zwei Zehnerpotenzen zurückgeht und damit auch die katalytische Aktivität fast vollständig erlischt. Darüber hinaus ist davon auszugehen, dass dieses defekte Enzym im Körper schneller wieder abgebaut wird, was zur Folge hat dass auch mit immunologischen Methoden weniger Arginase gefunden wird. Klinische Erscheinungen der Hyperargininämie sind geistige Retardierung, reduziertes Wachstum, Krampfanfälle und spastische Lähmungen (LAVULO et al. 2002). Berichte über die Beobachtung dieser Art bei Manganmangel sind nicht bekannt, was wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, dass die Arginaseaktivität im Manganmangel immer noch deutlich größer ist, als dies bei Mutationen der Fall ist.

2.7.1.2 Superoxid-Dismutase

Die Superoxid-Dismutase kommt in tierischen Zellen in zwei Varianten vor. Zum einen im Cytosol die kupfer- und zinkabhängige (Cu/Zn-SOD) und in den Mitochondrien die manganabhängige (MnSOD). Ihre Funktion ist der Schutz der Zelle vor dem Superoxidradikal ($O_2^{\circ -}$). Dieses wird in einer Disproportionierungsreaktion zu molekularem Sauerstoff (O_2) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) umgesetzt (Gleichung 2).



Das für die Zelle ebenfalls toxische Wasserstoffperoxid kann in einem weiteren Schritt durch Katalase entgiftet werden.

Die MnSOD (EC 1.15.1.1) hat ein Molekulargewicht von 80 kDa und besteht aus vier gleichen Untereinheiten, welche jeweils ein Mn-Atom binden. In der MnSOD wechselt die Oxidationsstufe während der Reaktion zwischen Mn^{3+} und Mn^{2+} (KEEN et al. 1984). Im Gegensatz zur Cu/Zn-SOD ist sie durch Zugabe von Zyanid nicht hemmbar, jedoch durch eine Mischung aus Chloroform und Ethanol. Die MnSOD ist in ihrer Struktur den bakteriellen Superoxiddismutasen sehr ähnlich, womit unter anderem die Plausibilität der Endosymbiontentheorie zur Entstehung der Mitochondrien untermauert wird (WEISINGER und FRIDOVICH 1973).

Das Superoxidradikal entsteht im Körper bei verschiedenen enzymatischen Reaktionen als Nebenprodukt aber auch spontan. Photosensibilisierende Substanzen führen unter Belichtung zur vermehrten Bildung von Superoxidradikalen während andere chemische Verbindungen, wie Viologene, Quinone und Arylnitroverbindungen auch ohne Lichteinfluss Superoxidradikale erzeugen können (BEYER et al. 1991). Beim Abbau von Ethanol in der Leber werden ebenfalls Superoxidradikale erzeugt. Diese können bei chronischem Alkoholgenuss eine Steigerung der Aktivität vor allem der MnSOD induzieren. Im Rahmen dieser Aktivitätssteigerung konnte konsekutiv auch eine Erhöhung der Lebermanganengehalte nachgewiesen werden (DREOSTI et al. 1981, DREOSTI et al. 1982). Das Superoxidradikal kann auf verschiedene Weise reagieren und dem Organismus schaden. So kommt es neben Lipidperoxidation auch zur Inaktivierung verschiedener Enzyme aus den Gruppen der Katalasen und Peroxidasen. Des Weiteren kann Superoxid Übergangsmetalle reduzieren, wobei weitere Radikale entstehen können, wie das Hydroxylradikal (HO°), welches wiederum extrem reaktiv gegenüber Zuckerphosphaten, Aminosäuren, Nukleotiden und anderen Metaboliten ist (BEYER et al. 1991).

Am Ovar sind beide Superoxiddismutasen in die Regulation des Zyklus des Corpus luteum involviert. So wurde nachgewiesen, dass die Expression beider Varianten des Enzymes durch luteotrophe Hormone unterschiedlich beeinflusst wird (SUGINO et al. 1993, SUGINO et al. 2000, TAKIGUCHI et al. 2000). Inwieweit eine reduzierte Aktivität der MnSOD für Zyklusaberrationen unter Manganmangelbedingungen verantwortlich ist, ist jedoch noch fraglich.

Die MnSOD ist im Gegensatz zur Cu/Zn-SOD auch durch Tumornekrosefaktoren (TNF- α , TNF- β) und Interleukin-1- α (IL-1 α) induzierbar (ROGERS et al. 2001). Diese Induzierbarkeit geht in bestimmten Tumoren verloren, womit der MnSOD eine Schutzfunktion in der gesunden Zelle gegenüber Einflüssen durch diese parakrinen Botenstoffe zukommen könnte (WONG und GOEDDEL 1988).

Die Aktivität der MnSOD nimmt im Manganmangel ab. Kompensatorisch kann die Cu/Zn-SOD-Aktivität zunehmen, was aber eine gesteigerte Lipidperoxidbildung nicht unbedingt verhindern kann (BELL und HURLEY 1973, DE ROSA et al. 1980, ZIDENBERG-CHERR et al. 1983, MASTER et al. 1988). Obwohl der Mangengehalt während eines Mangels am stärksten in der Leber abfällt, findet die deutlichste Abnahme der MnSOD-Aktivität im Herzen statt (PAYNTER 1980, MALECKI et al. 1994). Eine Abnahme der Aktivität konnte ebenso in aus Blut gewonnenen Lymphozyten nachgewiesen werden (DAVIS und GREGER 1992, DAVIS et al. 1992b).

2.7.1.3 Pyruvatcarboxylase

Die Pyruvatcarboxylase (PC, EC 6.4.1.1) ist in den Mitochondrien lokalisiert und besitzt im aktiven Zustand ebenfalls vier gebundene Moleküle Mn²⁺. Sie hat ein Molekulargewicht von 500 kDa. Werden zwei der vier Mn²⁺-Moleküle per Dialyse entfernt, geht die Aktivität auf 50% zurück. Durch Zugabe von Mn²⁺ lässt sich die Aktivität jedoch wieder voll herstellen. Die Entfernung aller 4 Moleküle geht hingegen mit einem irreversiblen Aktivitätsverlust einher (KEEN et al. 1984). Neben Mn²⁺ wird auch Biotin für die Reaktion benötigt (PETRIDES 1997).



Bei manganarm ernährten Tieren wurde ein Einbau von Magnesium in Form von Mg²⁺ beobachtet, ohne dass es zum Abfall der Aktivität kam (SCRUTTON et al. 1972). Lediglich bei Hungerstress im Manganmangel konnte bei der Ratte ein Abfall der Aktivität beobachtet werden (BALY et al. 1985c).

2.7.2 Manganaktivierte Enzyme

Die Enzyme dieser Gruppe sind meist nicht spezifisch auf Mangan angewiesen. In vielen Fällen ist auch das chemisch verwandte Magnesium in Form von Mg^{2+} in der Lage das Enzym zu aktivieren. Je nachdem welches dieser beiden Ionen die stärker aktivierende Wirkung besitzt, kann man die Enzyme in drei Untergruppen einteilen:

- a) Enzyme, deren maximale Aktivität mit Mn^{2+} erreicht wird
- b) Enzyme, bei denen vergleichbare Aktivitäten sowohl mit Mn^{2+} als auch mit Mg^{2+} (wenn auch bei unterschiedlicher Konzentration der Ionen) erreicht werden können.
- c) Enzyme deren maximale Aktivität nur mit Mg^{2+} erreicht werden kann

Übersteigt die Mn^{2+} -Konzentration deutlich den Punkt der maximalen Aktivität, kann es auch zur Hemmung des Enzymes kommen.

Bei den durch Mn^{2+} aktivierten Enzymen ist die Anwesenheit des Mangans zwar nötig für die Funktionalität, es muss aber nicht an das Enzym selbst gebunden vorliegen. So kann die Wirkung auch darin begründet sein, dass ein Substrat der Reaktion, zum Beispiel ATP, mit dem Mn^{2+} komplexiert vorliegen muss.

Obwohl Mangan chemisch auch dem Fe^{2+} ähnelt und es die gleichen Transportmechanismen im Körper benutzt, ist nur von der Phosphoenolpyruvatcarboxykinase (EC. 4.1.1.31) bekannt, dass eine Aktivierung sowohl durch Fe^{2+} als auch Mn^{2+} möglich ist (McEUEEN 1981, KEEN et al. 1984).

2.7.2.1 Glykosyltransferasen

Die Glykosyltransferasen stellen eine Gruppe von Enzymen mit Vorkommen in verschiedensten Geweben dar. Ihre Aufgabe ist die Übertragung eines Zuckers auf einen Akzeptor, meist ein Protein. Hierzu muss der Zucker an ein Nucleotiddiphosphat, im allgemeinen UDP, gebunden vorliegen. Einige dieser Enzyme zeigen *in vitro* eine Aktivierbarkeit durch Mangan (LEACH 1971).

In der Pathologie des Manganmangels spielt die Knorpelgalaktosyltransferase eine wichtige Rolle. Im wachsenden Knorpelgewebe werden die Glykosyltransferasen UDP-Xylosyltransferase (EC 2.4.2.26) sowie UDP-Galaktosyltransferase Typ I (EC 2.4.1.133) und Typ II (EC 2.4.1.134) zur Initiierung der Chondroitinsulfatsynthese benötigt. Chondroitinsulfat (CS, Abbildung 1) selbst ist eine repetitive Disaccharidkette aus Glucuronsäure und einem sulfatierten Galaktosamin (β -Glucuronat(1→3)- β -GalNAc-4-sulfat(1→4)-n) (PETRIDES 1997).

Obwohl für die Galaktosyltransferasen *in vitro*, neben der typischen Aktivierung mit Mn^{2+} auch eine Aktivierung mit Co^{2+} und Ni^{2+} gezeigt werden konnte, werden die Knochenverkrümmungen *in vivo* durch einen alleinigen Manganmangel ausgelöst und lassen sich nicht durch kompensatorische Co^{2+} und Ni^{2+} -Gaben verhindern (LEACH et al. 1969).

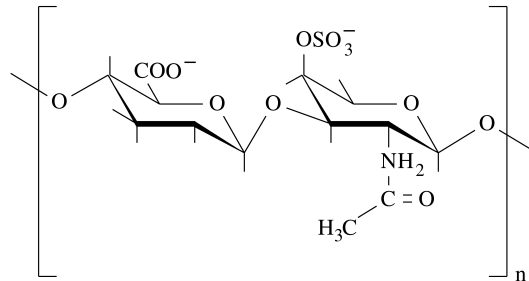


Abbildung 1: Struktur des Chondroitin-4-sulfats

Das Chondroitinsulfat kommt nicht frei im Knorpelgewebe vor, sondern ist an ein Kernprotein gebunden. Diese Bindung erfolgt durch eine Linksequenz aus einem Xylosemolekül, das an ein Serin des Proteins gebunden ist und zwei folgenden Galaktosemolekülen (Abbildung 2). Die Verbindungen aus Proteingerüst und Glucosaminoglykanseitenketten werden auch als Mukopolysaccharide bezeichnet.

Den ersten Schritt der Chondroitinsynthese katalysiert die UDP-Xylosyltransferase (EC 2.4.2.26), die nächsten beiden die manganabhängigen UDP-Galaktosyltransferasen I (EC 2.4.1.133) und II (EC 2.4.1.134). Abschließend beginnt die N-Acetylgalactosaminyltransferase I (EC 2.4.1.174) die Synthese der CS-Kette (siehe Abbildung 2). Somit ist erkennbar, dass eine Chondroitinsynthese ohne die Glykosyltransferasen nicht stattfinden kann.

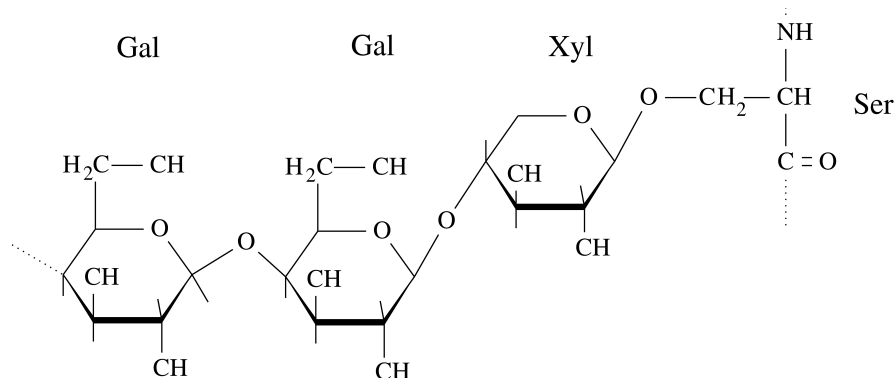


Abbildung 2: Aufbau der Linkregion des Chondroitinsulfates

Durch seine vielen polaren Gruppen (Säuregruppe des Glucurons, Sulfat- und Ketogruppe des Galaktosamins) ist das Chondroitinsulfat sehr hydrophil. Dadurch bindet es Wasser im Knorpel, was dessen Druckstabilität bedingt (PETRIDES 1997).

Weil die Folgen einer unzureichenden Aktivierung der Glykosyltransferasen im Manganmangel Knochenverkrümmungen sind, wurde in den Anfängen der Forschung über die Funktionen des Mangans im Vertebratenorganismus angenommen, dass es sich hierbei um eine Mineralisierungsstörung der Knochen handeln müsse. Erst mit der Erkenntnis, dass der Knorpel manganabhängige Enzyme enthält, wurde erkannt, dass die Mineralisierung nicht beeinträchtigt ist, jedoch das Wachstum des Knorpels in den Epiphysenfugen und an den Gelenkflächen gestört ist. Es konnte eindeutig gezeigt werden, dass verminderte Gehalte an Chondroitinsulfat die Folge sind (LEACH 1967) und dass eine Zugabe von Mangan zu einer homogenisierten Knorpelprobe eines defizienten Tieres, *in vitro* die Synthese von Chondroitinsulfat deutlich verbessert (LEACH et al. 1969, LEACH 1971, BOLZE et al. 1985).

Als limitierender Schritt im Manganmangel wird die UDP-Galaktosyltransferase I angesehen, jedoch konnte auch eine Manganabhängigkeit für die UDP-Xylosyltransferase gezeigt werden (McNATT et al. 1976).

Die direkte Bestimmung der Aktivität der Galaktosyltransferasen ist nicht einfach, da diese ein bestimmtes Proteingerüst als Akzeptor erwarten und das Produkt nicht direkt zu messen ist. Wird das im Knorpel ohnehin vorhandene Protein als Substrat verwendet, sind Verfälschungen des Ergebnisses durch die unbekannte Zahl von Akzeptorregionen nicht ausgeschlossen. Obwohl mittlerweile Verfahren beschrieben wurden, die Aktivität der Galaktosyltransferasen aus dem Knorpel erfassbar zu machen (HIGUCHI et al. 1994, PARKER et al. 1995), stützen sich die Untersuchungen von Veränderungen durch Manganmangel vorwiegend auf die Messung der Endprodukte der Glykosyltransferasen.

Diese Veränderungen am Knorpel durch Manganmangel lassen sich bereits im Lichtmikroskop erkennen, so erscheinen Epiphysen und Gelenkknorpel dünner, die säulenartige Anordnung der Chondrozyten wird undeutlicher und auch die Regionen der Ossifikation sind verändert (STALEY et al. 1994). Beim Kalb konnte darüber hinaus sogar makroskopisch die Bildung einer Säbelscheidentrachea infolge instabiler Trachealspangen beobachtet werden (VALERO et al. 1990). Anstatt der relativ aufwendigen Bestimmung des Chondroitingehaltes des Knorpels, wird häufig die Hexuronsäurekonzentration (LIU et al. 1994) oder die Hexosaminkonzentration gemessen (LEACH 1967), welche sich proportional zum Chondroitingehalt verhalten.

Doch nicht nur im Knorpel ist die Glucosaminoglykansynthese beeinträchtigt, auch in anderen Geweben wie Arterie (YANG und KLIMIS-TAVANTZIS 1998) und Eischalen (LONGSTAFF und HILL 1972) konnten Veränderungen nachgewiesen werden. Es wird auch ein Einfluss auf die Eigenschaften und Verstoffwechselung von Lipoproteinen angenommen, denn in die Bildung der

„Very Low Density Lipoprotein“-Fraktion (VLDL) sind ebenfalls Glykosyltransferasen involviert (KLIMIS-TAVANTZIS et al. 1983). Erst die richtige Glykosylierung ermöglicht der Zielzelle die Erkennung und somit selektive Aufnahme des Lipoproteins.

2.7.2.2 Weitere Enzyme

HEISEKE und KIRCHGESSNER (1979) untersuchten auch den Einfluss der Manganversorgung auf die Aktivität der Isocitratdehydrogenase, des Malatenzymes, der Malatdehydrogenase, Glucose-6-Phosphatdehydrogenase und der Lactatdehydrogenase, welche auch eine *in vitro* Aktivierbarkeit durch Mangan zeigen. Lediglich die Malatdehydrogenase (EC 1.1.1.37) ging in ihrer Aktivität zurück, während die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase und die Laktatdehydrogenase leicht erhöht waren. Die übrigen Enzyme blieben unverändert.

2.7.3 Gebundenes und freies Mangan in der Zelle

Viele Studien zur Wirkung des Mn^{2+} auf Enzymaktivitäten beziehen sich auf Experimente mit Organhomogenat oder gar aufgereinigten Enzymen in Pufferlösungen verschiedener Art, die mit unterschiedlichen Gehalten von Mn^{2+} angereichert wurden. Die auf diesem Wege ermittelten optimalen Mn^{2+} -Konzentrationen können aber nicht ohne weiteres als Grundlage für die Verhältnisse in der Zelle verwendet werden. So ist das in der Zelle enthaltene Mangan ungleichmäßig auf die verschiedenen Kompartimente verteilt und unter Umständen auch an Protein gebunden. Darüber hinaus ist die Interaktion des verbleibenden freien Mn^{2+} mit den Enzymen auch abhängig vom pH-Wert des jeweiligen Zellkompartimentes (McEUN 1981).

2.7.4 Weitere Effekte

2.7.4.1 Kohlenhydratstoffwechsel

Der Kohlenhydratstoffwechsel, speziell die Gluconeogenese und der Blutglucosespiegel, werden durch den Manganversorgungsstatus beeinflusst. Beobachtet werden im Manganmangel reduzierte Gluconeogenese, speziell beim Neonaten, sowie reduzierte Insulinsynthese und -ausschüttung und konsekutiv auch eine verringerte Glucosetoleranz (BALY et al. 1984, BALY et al. 1985a). An Hepatozyten konnte gezeigt werden, dass die Zellen in einem manganhaltigen Puffer empfindlicher auf eine Stimulation durch Glucagon und Epinephrin reagierten (ROGNSTAD 1981).

Nach aktuellem Erkenntnisstand ist das Mangan zwar an der Aktivierung der Enzyme Pyruvatcarboxylase und Phosphoenolpyruvatcarboxykinase beteiligt, somit existiert ein Erklärungsansatz für die reduzierte Gluconeogenese im Manganmangel. Warum Mangan die Wirkung von Glucagon und Epinephrin verstärkt oder in die Insulinsynthese und -ausscheidung eingreift, ist bisher jedoch nicht bekannt.

Des Weiteren beeinflusst Manganmangel aber auch die Insulinwirkung an Effektorzellen. So geht sowohl die Glucoseaufnahme in Adipozyten als Reaktion auf eine Insulinwirkung, als auch die Verstoffwechslung der Glucose in den Adipozyten zurück. Ursache ist eine verringerte Glucose-transportkapazität durch die Zellmembran. Jedoch werden weitere Effekte auf die Verstoffwechslung in der Zelle vermutet. (BALY et al. 1985b, 1990).

Auch nach einer exzessiven, parenteral verabreichten Dosis Mangan wird der Kohlenhydratstoffwechsel tangiert. So beobachteten KEEN et al. (1985) eine dosisabhängige Steigerung der Blutglucosekonzentration, die sie auf eine gesteigerte Gluconeogenese zurückführten.

2.7.4.2 Amylasesekretion

Mangan hat auch einen Einfluss auf die Synthese und Sekretion von α -Amylase im Pankreas. Im Manganmangel wird bei der Ratte vermehrt α -Amylase gebildet. Dieser Effekt ist auf Ebene der Enzymaktivität und der α -Amylase-mRNA-Expression nachweisbar und bleibt zu einem gewissen Grad auch nach Repletion bestehen (ABDELMOUMENE und GARDNER 1981, BRANNON et al. 1987, CHANG et al. 1990).

2.7.4.3 Lipidstoffwechsel

Einflüsse und Auswirkungen auf den Lipidstoffwechsel sind noch nicht genau eingegrenzt und untersucht. Es werden verschiedene Effekte beschrieben wie erniedrigte Cholesterinspiegel im Plasma und ein abgesenkter Cholesterolgehalt in High Density Lipoproteins (HDL) (DAVIS et al 1990), reduzierte Fettsäuresynthese und erniedrigte Low Density Lipoproteins (LDL)-Konzentrationen bei konstantem Plasmacholesterol (KLIMIS-TAVANTZIS et al. 1983) sowie veränderte Zusammensetzung und chromatographische Eigenschaften des HDL (KAWANO et al. 1987). Die Mechanismen, die für diese Beobachtungen verantwortlich sind, sind noch unbekannt. Eine mögliche Erklärung könnte eine Veränderung der Glykosylierung der Lipoproteine und damit verbundene Probleme bei der Aufnahme in die Zielzellen sein (siehe 2.7.2.1).

2.7.4.4 Nucleinsäurestoffwechsel

Des Weiteren konnten *in vitro* auch Effekte auf den Nucleinsäurestoffwechsel beobachtet werden. So verändert sich das Schnittmuster bestimmter Endonucleasen in Gegenwart von Mn^{2+} und die Spezifität von RNA- und DNA-Polymerasen aus *E. coli* nimmt ab, die RNA-Spezifität von reverser Transkriptase aus Myelocytomatosevirus 29 jedoch zu (McEUN 1981). Ob jedoch auch Auswirkungen eines Manganmangels auf den Nukleotidstoffwechsel des Säugers *in vivo* existieren ist noch nicht bekannt.

2.7.4.5 Signalwirkung auf Zellebene

Der intrazellulären Mangankonzentration könnten auch Steuerungsfunktionen zukommen, ähnlich wie es bei Ca^{2+} und Mg^{2+} der Fall ist. Speziell am Pankreas wurde ein Zusammenhang von intrazellulärer Mn^{2+} -Konzentration und Exocytose von insulinhaltigen Vesikeln festgestellt (RORSMAN 1982). Allerdings ist auch hier der Mechanismus auf molekularer Ebene noch nicht bekannt.

2.8 Manganmangel und seine Symptome

Der Manganmangel wurde in etwa zeitgleich bei Ratte und Maus beschrieben (ORENT und McCOLLUM 1931, KEMMERER et al. 1931). Die anderen Tierarten, darunter auch das Schwein (MILLER et al. 1940), folgten. Eine besondere Rolle kommt dem Mangan beim Nutzgeflügel zu, da bei diesen Tieren der Manganbedarf besonders hoch ist und sich der klinische Mangel am ehesten manifestiert. Bei Huhn und Pute stehen Knochenveränderungen im Vordergrund, die zu einem Abrutschen der Achillessehne vom Tarsus führen und als Perosis bezeichnet werden. Dieses Abrutschen brachte der Erkrankung im englischsprachigen Raum das Synonym „slipped tendon disease“ ein (WILGUS et al. 1936). Obwohl die Essentialität des Mangans schon lange bekannt ist, wurde seine Bedeutung in der Humanernährung lange Zeit unterbewertet und Nährlösungen zur parenteralen Anwendungen nicht mit Mn^{2+} supplementiert. So wurden noch im Jahre 1999 in klinischen Studien Manganmangelzustände infolge von dauerhafter parenteraler Ernährung beschrieben (FITZGERALD et al. 1999).

2.8.1 Wachstumsdepression

Nur in einem Teil der experimentell herbeigeführten Mangelsituationen konnte eine Wachstumsdepression provoziert werden. Es ist unklar, ob diese durch Beeinträchtigung des Stoffwechsels oder indirekt durch reduzierte Nahrungsaufnahme nach Auftreten von Störungen des Bewegungsapparates hervorgerufen wurde (PLUMLEE et al. 1956).

2.8.2 Ataxie

Bei Neugeborenen von manganarm ernährten Muttertieren fällt neben einer erhöhten Sterblichkeit als deutlich erkennbares Symptom Ataxie auf. Diese konnte auf Fehlen des statischen Gleichgewichtssinnes zurückgeführt werden. Folge dieser Orientierungslosigkeit ist, dass das mütterliche Gesäuge nicht aufgefunden wird, was zu hoher postmortaler Sterblichkeit führt (SHILS und McCOLLUM 1943, HEINEMANN 1991). Histologisch konnte als Ursache ein Fehlen der Otholithen im Gleichgewichtsorgan (Makulaorgan) nachgewiesen werden (ERWAY et al. 1970). Die Otholithen sind kleine mineralisierte Körnchen in einer gallertigen Membran. Diese Gallerte besteht überwiegend aus Mukopolysacchariden, zu deren Synthese manganabhängige Glykosyltransferasen benötigt werden. Diese Veränderung ist durch postnatale Mangangaben nicht reversibel (SHRADER und EVERSON 1967, SHRADER et al. 1973).

2.8.3 Knochenverkrümmungen

Bei Tieren, die während dem Wachstum außerhalb des Mutterleibes einem Manganmangel ausgesetzt sind, stehen Symptome am Bewegungsapparat im Vordergrund. Es sind Verkrümmungen und Verkürzungen der Gliedmaßen die in der Regel zuerst auffallen. Die Vordergliedmaßen sind meist stärker betroffen als die Hintergliedmaßen. Beim Schwein werden häufig Verdickungen der Fersenhöcker beschrieben, bei Kälbern Verkürzung des Gesichtsschädels, Verformungen des Unterkiefers, sowie abgeflachte Trachealspangen. In Röntgenaufnahmen fällt neben der Verkürzung von Radius, Ulna, Metakarpalknochen, Tibia, Fibula und Metatarsalknochen auch eine Verschiebung der Epiphysenfugen von Radius und Ulna relativ zueinander auf. Die distalen Enden von Radius und Ulna sind verdickt und es können Areale mit ausgedünnter Knochenstruktur auftreten. Diese Veränderungen lassen sich eindeutig auf mangelhafte Aktivierung der Glykosyltransferasen (siehe 2.7.2.1) zurückführen. Erfolgt eine Resupplementierung noch während des Wachstums können solche Veränderungen teilweise bis vollständig reversibel sein (NEHER et al. 1956, PLUMLEE et al. 1956, VALERO et al. 1990, STALEY et al. 1994).

2.8.4 Sterilität

Infolge des Manganmangels wurden unregelmäßiger bis ausbleibender Sexualzyklus beim weiblichen Tier beschrieben (KEMMERER et al. 1931). In Studien von HEINEMANN (1991) blieb die Fruchtbarkeit von Häsinnen im Manganmangel auch nach medikamenteller Zyklusinduktion hinter der von Kontrolltieren zurück. Beim männlichen Tier wurden auch reduzierte Spermienproduktion bis hin zu Hodendegeneration beobachtet (BOYER et al. 1942). Kommt es trotz Manganmangel zur Konzeption können auch vermehrt mumifizierte Früchte auftreten, die hohe Sterblichkeit nach der

Geburt steht jedoch im Vordergrund (SHILS und McCOLLUM 1943). Als Ursache für die reduzierte Fruchtbarkeit beim weiblichen Tier wird mangelnde Aktivität der MnSOD im Gelbkörper diskutiert (siehe 2.7.1.2).

2.8.5 Histologische Befunde

Obwohl sich die Beschreibungen von Veränderungen im Manganmangel weitgehend auf Knochen, Knorpel und Otolithen beschränken, lassen sich licht- und elektronenmikroskopisch auch in den großen Parenchymen Veränderungen nachweisen. Schon lichtmikroskopisch zeigt sich in der Leber eine Schwellung und Granulierung der Hepatozyten. Elektronenmikroskopisch stellen sich vermehrt Fetttropfchen, erweitertes unstrukturiertes, rauhes endoplasmatisches Retikulum und von Lipiden umrandete, geschwollene, polymorphe Mitochondrien dar. Auch in anderen Organen treten Veränderungen auf, hier steht meist Vakuolenbildung im Vordergrund (BELL und HURLEY 1973).

2.9 Toxizität

Mangan gilt als das Spurenelement mit der geringsten Toxizität. Bei Experimenten in der Anfangszeit der Manganforschung wurden zum Teil extrem hohe Dosen Mangan verfüttert und lediglich ein geringeres Wachstum der Tiere festgestellt (GRUMMER et al. 1950, LEIBHOLZ et al. 1972). Ist parallel zum erhöhten Mangan auch reichlich Eisen in der Diät enthalten, bleibt auch der Eisenstoffwechsel weitgehend unbeeinträchtigt (HO et al. 1984). Diese geringe Toxizität scheint die Ursache dafür zu sein, dass es kaum Untersuchungen zu Schwellenwerten von Unter- und Überversorgung gibt, da man durch die große therapeutische Breite nicht auf die Kenntnis dieser Werte angewiesen ist.

Beim Menschen konnten jedoch parkinsonähnliche Symptome mit einer Mangananreicherung im ZNS assoziiert werden. Die Ursache ist in der Regel eine aerogene Aufnahme des Mangans in Form von Stäuben, vor allem bei Grubenarbeitern oder Arbeitern der Metallindustrie. Doch durch die Verwendung von Methyl-cyclopentadienyl-mangan-tricarbonyl (MMT) als Bleiersatz in Treibstoffen, erreicht Mangan aerogen größere Teile der Bevölkerung. Die Anreicherung ist ein Vorgang, der Jahre bis Jahrzehnte dauert. Als Pathomechanismus wird eine Störung des dopaminergen Systems angenommen (BARCELOUX 1999). Die Voraussetzungen sowie die Art und Weise des Mangantransportes durch die Bluthirnschranke und damit der Ursache der Akkumulation werfen noch viele Fragen auf (DORMAN et al 2001, MALECKI 2001).

Wenn die Ausscheidung mit der Galle nicht mehr möglich ist, beginnt sich auch oral oder per Infusion zugeführtes Mangan im Körper, wiederum vor allem im Gehirn, anzureichern bis parkinson-ähnliche Symptome auftreten (FINLEY und DAVIS 1999).

Da in Feldstudien am Menschen Abhängigkeiten zu moderat erhöhten Mangangehalten in Diät und vor allem Trinkwasser mit neurologischen Symptomen nachweisbar waren, gibt man, trotz der sonst so geringen oralen Toxizität mit 60 ng Mn/kg/d für Trinkwasser bzw. 4.2 mg Mn/d für einen Erwachsenen Menschen mit 70 kg Gewicht, relativ niedrige LOAEL-Werte für den Menschen an (lowest observed adverse effect level = niedrigster Wert bei dem ein nachteiliger Effekt beobachtet werden konnte). So kommt es, dass mitunter von Toxikologen vorgeschlagene Grenzwerte für Mangan unter den Versorgungsempfehlungen, und vor allem deutlich unter den in manchen Regionen tatsächlich und regelmäßig aufgenommenem Mangandosen, liegen (GREGER 1998).

Obwohl die Ergebnisse der toxikologischen Studien zur Zeit keine präzisen Aussagen zulassen, welche Mangandosen nun wirklich eine Gefahr für Mensch und Tier darstellen, wird in Zukunft vermehrt darauf geachtet werden müssen, die Belastungen der Umwelt möglichst gering zu halten. Diese Forderung gilt in besonderem Maße für die Schwermetalle. Gerade hier wird in der Tierernährung ein Umdenken statt finden müssen, da es bei den Spurenelementen Usus ist, deutlich über den Bedarf hinaus zu supplementieren. Gründe hierfür sind, dass die Verbindungen der meisten Spurenelemente für das Tier kaum toxisch sind, die Kosten für Spurenelementzusätze im Vergleich zu Vitaminen und synthetischen Aminosäuren verschwindend gering sind und leistungssteigernde Effekte durch die hohen Zusätze erwartet wurden. Doch auf landwirtschaftlichen Böden summiert sich so eine hohe Belastung mit eben diesen Schwermetallen. Im Falle von Mangan sind die Gehalte in der Gülle infolge der geringen Verwertung umso höher. Mit Gülle ausgebrachtes Mangan kann nur in begrenztem Maße vom Boden aufgenommen werden und erscheint dann im Grundwasser. Einträge bis zu 40 kg Mn/ha durch Schweinegülle wurden in Feldstudien gemessen (L'HERROUX et al. 1997).

2.10 Manganquellen für Säugetiere

2.10.1 Native Gehalte in Futtermitteln

Mangan ist in Einzelfuttermitteln in sehr unterschiedlichem Maße vorhanden. Zu den mit über 100 mg Mn/kg TM manganreichen Futtermitteln gehören die Grünlandaufwüchse, Produkte aus Palmkern und Kokos, Lupinen und Rübenblätter. Mit 30 – 100 mg Mn/kg FM weisen Getreidekörner, Soja- und andere Extraktionsschrote, Trockenschnitzel sowie Ackerbohnen mittlere Gehalte auf. Mit < 30 mg Mn/kg FM manganarm sind Milch und Milchprodukte, einige Fischmehle, Mais-

körner und Blutmehl. Tabelle 1 enthält eine Übersicht von typischen Mangangehalten einiger in der Schweinefütterung eingesetzter Futterkomponenten. Diese Werte basieren jedoch auf relativ alten Messungen und berücksichtigen keine regionalen Besonderheiten.

Tabelle 1: Mangangehalte ausgewählter Futtermittel nach DLG-Mineralstofftabellen (1973):

Futtermittel	Mn mg/kg TM	Futtermittel	Mn mg/kg TM
Ackerbohnen, Grünfutter, frisch	38	Rapsextraktionsschrot	75
Ackerbohnen, Samen	33	Rapskuchen	57
Erdnusskuchen, enthülst	46	Roggen, Körner	53
Erdnusschrot, extrahiert enthülst	57	Sesamextraktionsschrot	60
Fischereierzeugnisse		Sojaextraktionsschrot	33
Dorschmehl, 55-60% Protein	18	Sonnenblumenextraktionsschrot, entschält	49
Fischmehl, 55-60% Protein	21	Sonnenblumenextraktionsschrot, teilweise entschält	56
Fischmehl, 60-65% Protein	17	Sonnenblumenkuchen, entschält	47
Heringsmehl, < 65% Protein	6	Blutmehl	6
Heringsmehl, > 65% Protein	8	Tierkörpermehle, entleimt	25
Futtererbse, Grünfutter, frisch	25	Tierkörpermehle, Tierkörpermehl	21
Futtererbse, Samen	17	Trockenschnitzel	74
Gerste, Sommerstroh	83	Weidegras, vor der Blüte	164
Gerste, Körner (Sommer)	18	in der Blüte	144
Hafer, Stroh	83	2. Aufwuchs vor der Blüte	60
Hafer, Körner	48	Weizenkörner (Winterw.)	35
Bierhefe, getrocknet	59	Weizenkleie	134
Kartoffeln	7	Wiesengras, 1. Schnitt vor der Blüte	116
Kokosextraktionsschrot	82	1. Schnitt Beginn bis Mitte der Blüte	78
Kokoskuchen	108	2. Schnitt vor der Blüte	99
Leinextraktionsschrot	47	Wiesenheu, 1. Schnitt vor der Blüte	86
Leinkuchen	44	1. Schnitt Beginn bis Mitte der Blüte	108
Mais, Körner	9	2. Schnitt vor der Blüte	112
Maiskleberfutter	28		
Malzkeime	41		
Melasse (Rüben)	36		
Milch, Vollmilch von der Kuh	1		
Milch, Sauenmilch	1		
Milokorn	16		
Palmkernextraktionsschrot	261		
Palmkernkuchen	203		

2.10.2 Zur Ergänzung von Futtermitteln geeignete Verbindungen des Mangans

Während in der Vergangenheit ausschließlich anorganische Verbindungen des Mangans als Futteradditive eingesetzt wurden, wirbt die Futtermittelindustrie nun auch mit organisch komplexierten Spurenelementen. So wird Mangan auch als Methioninkomplex oder als Proteinat angeboten. Werbeargument ist eine hohe Verfügbarkeit des Mangans aus diesen Verbindungen. Allerdings existiert wenig Literatur, die diese hohe Verfügbarkeit auch zu beweisen vermag. So konnten weder BAKER und HALPIN (1987) noch SCHEIDELER (1991) beim Broiler deutliche Unterschiede in der Verwertung zwischen mineralischem Mangan und Mn-Methionin zeigen. Letztgenannte verfütterten ausschließlich Rationen, die mit 1000 mg Mn/kg in der Ration deutlich den Bedarf des Geflügels überstiegen. Hingegen zeigten FLY et al. (1989) eine gesteigerte Verfügbarkeit des Mangans aus dem Methioninkomplex. Dieser Effekt kam allerdings auch erst bei höheren Mangangehalten in der Diät zum Tragen, wohingegen bei marginaler Versorgung der Unterschied in der Verwertung eher gering war. KUHLMAN und ROMPALA (1998) verwendeten Zn-, Mn- und Cu-Proteinate zur Fütterung von Beaglehündinnen. Im Vergleich zu den mineralischen Verbindungen fanden sie bei gleicher Konzentration bessere Konzeptionsraten obwohl die von ihnen untersuchten Statusparameter, die Mineralstoffgehalte im Haar, unbeeinflusst waren.

2.10.3 Manganzusatz zu Futtermitteln im Futtermittelrecht

In der Bundesrepublik Deutschland gehören nach dem Futtermittelgesetz (FMG) die Verbindungen der Spurenelemente, die zur Futterergänzung geeignet sind, zu den Zusatzstoffen. Jede einzelne Verbindung eines Spurenelementes bedarf damit der Zulassung. Die Zulassung erfolgt schließlich durch eine Aufnahme der Verbindung einschließlich Angaben zum Maximalgehalt im Futter und eventueller Besonderheiten für bestimmte Tierarten, in die Anlage 3 zur Futtermittelverordnung (FMVO) (RADEWAHN und CZEKALA 2004). Im Jahre 2004 wurden die maximalen Gehalte von Spurenelementen in Futtermitteln durch die EU-Verordnung 1334/2004 gesenkt. Diese Senkung spiegelt Bestrebungen zur Reduktion des Schwermetalleintrags in die Umwelt durch die Landwirtschaft wider. Nach dieser Verordnung sind zur Zeit die in Tabelle 2 aufgeführten Verbindungen des Mangans zugelassen. Für alle diese Zusätze gilt, dass inklusive der nativen Gehalte der Ausgangskomponenten ein Maximalgehalt von 150 mg Mn/kg Alleinfutter (bei 88% TM einzuhalten ist).

Tabelle 2: *Zugelassene manganhaltige Verbindungen nach Anlage 3 zur Futtermittelverordnung*

<i>Bezeichnung</i>	<i>Chemische Bezeichnung</i>	<i>Tierart</i>	<i>Gehalt im Futtermittel</i>
Mangan(II)-carbonat	MnCO ₃	alle	max 150 mg/kg ¹
Mangan(II)-chlorid Tetrahydrat	MnCl ₂ x 4 H ₂ O	"	"
Mangan(II)-oxid	MnO	"	"
Mangan(III)-oxid	Mn ₂ O ₃	"	"
Mangan(II)-phosphat, Trihydrat	MnHPO ₄ x 3H ₂ O	"	"
Mangan(II)-sulfat, Tetrahydrat	MnSO ₄ x 4 H ₂ O	"	"
Mangan(II)-sulfat, Monohydrat	MnSO ₄ x H ₂ O	"	"
Aminosäuren-Manganchelat, Hydrat	Mn (x) ₁₋₃ x n H ₂ O (x = Anion von Aminosäuren aus hydrolysiertem Sojaprotein) Molekulargewicht max. 1500)	"	"

¹ Höchstgehalt im Alleinfutter ab dem 26.01.2004 (EU-Verordnung 1334/2003), vorher max 250 mg/kg

2.10.4 Mangan in der Milch

In Milch und Milchprodukten ist wenig Mangan enthalten. Diese geringen Mengen sind allerdings für das Jungtier hoch verfügbar (CARTER et al 1974, KOSITAL et al. 1980). Bei der Verfügbarkeit bestehen jedoch Unterschiede zwischen den einzelnen Tierarten. Mangan aus Kuhmilch ist für neugeborene Ratten schlechter verfügbar als jenes aus Humanmilch. Dies wird auf die andere Bindung zurückgeführt. Während in humaner Milch das Mangan überwiegend in der Molke vorkommt, ist es bei der Kuhmilch in der Caseinfraktion enthalten (LÖNNERDAL 1983).

Ein weiterer interessanter Aspekt ist, dass sich der Mangangehalt in der Milch bei verschiedenen Haustierrassen ungleich über die Laktationsphase entwickelt. Während die Gehalte in der Sauenmilch im Laufe der Laktation zunehmen, sinken sie beim Kaninchen ab (PALLAUF et al. 1993).

2.11 Versorgungsstatusparameter

Zur Zeit existiert kein Parameter, der als Statusparameter standardmäßig am lebenden Organismus herangezogen wird, um auf dessen Manganversorgung zu schließen. Während in Tierexperimenten häufig Organkonzentrationen des Mangans gemessen werden, ist man bei Feldstudien am Menschen auf Blut, Urin und Haare beschränkt.

Inwieweit eine Erfassung von manganabhängigen Enzymen in Kombination mit dem Serum-mangengehalt zur Feststellung von Manganüber- und -unterversorgung dienen kann, ist noch nicht abschließend geklärt. Da die Enzyme Arginase und MnSOD auch stark durch die Stoffwechsellage des Individuums beeinflusst werden, ist es schwierig, ihre absolute Aktivität als Parameter zu werten (DAVIS und GREGER 1992, GREGER 1998).

Der Mangengehalt im Vollblut reagiert erst relativ langsam auf eine reduzierte Manganaufnahme mit der Nahrung, spiegelt dann jedoch relativ gut die Versorgung wieder (CLEGG et al. 1986, HAMS und FABRI 1988, PALLAUF et al. 1993). Die Gehalte bezogen auf die Frischmasse sind allerdings sehr niedrig und stellen damit hohe Anforderungen an die Analytik (KEEN et al. 1983b). Auch der Mangengehalt der einzelnen zellulären Kompartimente des Vollblutes wurde nach Aufreinigung auf seine Tauglichkeit als Statusparameter untersucht (MATSUDA et al. 1989, EKMEK-CIOGLU et al. 2001). Allerdings sind diese Methoden auf Grund ihres analytischen Aufwandes und der hohen Kosten nicht für Routinezwecke geeignet.

In der Vergangenheit wurde mehrfach versucht, die Mangankonzentration im Haar als Versorgungsstatusparameter heranzuziehen (COMBS 1987, PRZYBILLA 1988, KUHLMAN und ROMPALA 1998, FÜRLI et al. 2004). Dieses Verfahren konnte sich aber beim Schwein nicht durchsetzen, da infolge der Suhlgewohnheiten eine Kontamination von außen nicht ausgeschlossen werden kann.

Der Gehalt im Urin geht zwar im extremen Manganmangel zurück, steigt aber bei Überversorgung nicht weiter an. Darüber hinaus ist die Mangankonzentration im Urin gering (KAYONGO-MALE et al. 1975, KAYONGO-MALE 1980). Als Statusparameter ist daher die Urin-Mangankonzentration wenig geeignet.

2.12 Mangan in der Schweineernährung

Bereits im Jahre 1940 beschrieben MILLER et al. die typischen Symptome des Manganmangels beim Schwein. Es wurde eine besondere Lahmheit beobachtet, die sich deutlich von anderen mangelbedingten Lahmheiten (z.B. bei erniedrigter Zufuhr von Calcium, Phosphor Vitamin D oder A) abgrenzen ließ. Auch wurde durch Knochenaschemessungen und Röntgenaufnahmen nachgewiesen, dass diese Knochenverkrümmungen nicht durch eine Mineralisierungsstörung, sondern durch Veränderungen in den Epiphysenfugen verursacht wurden. Die Beobachtungen beschränkten sich auf Bestände in denen Rationen aus Körnermais, Fleischmehl, Sojaöl und Luzernegrünmehl verfüttert wurden. Zu dieser Zeit war schon bekannt, dass die Perosis beim Geflügel, die bei ähnlichen Rationen auftritt, eine Manganmangelerscheinung ist. Ein Zulageversuch mit Mangansulfat lieferte schließlich den eindeutigen Beweis MILLER et al. (1940).

2.12.1 Untersuchungen zum Manganbedarf

Die veröffentlichten Forschungsergebnisse zum Manganbedarf des Schweines sind mitunter relativ alt und lassen sich nur eingeschränkt vergleichen. Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die Manganbedarfsstudien der Vergangenheit gegeben werden (Tabelle 3).

Tabelle 3: Untersuchungen zum Manganbedarf des Schweines

<i>Tiere</i>	<i>Körper- gewicht</i>	<i>Dauer</i>	<i>Mn in Ration¹</i>	<i>Beobachtung²</i>	<i>Quelle</i>
	kg		mg/kg		
Sauen	o.A. ³		0,29; 6; 95; 101	< 6ppm Mn: REP↓ ≤ 6ppm Mn: MnLeb↓, Mn in Ferkeln↓,	JOHNSON (1943)
Läufer (n = 35)	32-100		12 ; +40; +80; +160	ZT →, MnLeb →, REP →	GRUMMER et al. (1950)
Läufer (n=8)	o.A.		12; +500	ZN ↓, FVW↓, FA↓	
Ferkel (n=9)	15	14 Wo	1,5; 20,5; 34	ZT →, MnLeb ↑	PLUMLEE et al. (1956)
Ferkel	20-110		1,4; 40	ZT →, MnLeb ↑, Mangelgruppe: Veränderung an Fersen	
Sauen (n=4)	20		1,0; 3,4; 38, 40	ZT →, MnLeb↑, MnOrg↑, REP →, MnK→	
Ferkel (♀) (n=10)	4,25		0,5; 40	Mangelgruppe: Mangelsymptome, Fettansatz↑, REP↓↓	
Ferkel (♀) (n=9)	4,3	335d	0,5; 40	Mangelgruppe: Mangelsymptome, Fettansatz↑, Histologische / Radiolo- gische Veränderungen	NEHER et al. (1956)
Ferkel (n=6)	4,3	35d	4,5; 44,5	Mangelgruppe: ZT→,MnLeb↓ MnK→, AP(Knochen)↓	LEIBHOLZ et al. (1972)
Sauen (n=6)			8,9; 117	REP →, Mn in Milch↑, Mn in Fer- keln↑, MnLEB↑	
Ferkel (n=6)	4,3	6 Wo	14,8; +25; +75; +225; +675; +2025	ZT →, AP (Knochen) →, Mn Kno- chen↑, HB↓	
Ferkel (n=15)	4,7	10 Wo	14,8; +40; +400; +4000	ZT →(Bei Mn = 4000pm Wachstum↓), AP (Knochen) →, Mn im Herz ↑, Mn Knochen ↑	
Ferkel (n=12)	o.A.	30 d	0,46; 2,67; 6,34	Serum Mn↑, Serum Mg↑, Mn-Reten- tion↑, niedere Gruppe : ZN ↓, mittlere Gruppe FW ↑,	KAYONGO-MALE et al. (1975)
Ferkel (♂) (n=4-5)	9	6 Wo	0,59; 22	Serum: Mg↑, Zn→, Cu→, Ca→ MnLeb↑, MnMusk↑, MnLung↑, MnHirn↑, MnPankreas→, MnMilz→, MnHerz→, ARG↑, Isocitrat-Dehy- drogenase↑,	BURCH et al. (1975)
Sauen (n=33)	o.A.	3 Grav.	5, 10; 20	Nach dem ersten Absetzen zeigten Sauen mit 5ppm Mn seltener einen Oestrus innerhalb von 7d	CHRISTIANSON et al. (1989)
Sauen (n=5-6)	100		10; 84	ZT →, REP →, Mn-Balance →	RHEAUME und CHAVEZ (1989)

¹ Angaben mit vorangestelltem „+“ sind Zulagen zur Grundration

² ↑: bei mehr Mn in der Ration erhöht, → keine signifikante Veränderung, ↓ bei mehr Mn in der Ration erniedrigt, ZT = zootechnische Parameter, ZN = Zunahme, FW=Futtermittelverwertung, MnB = Mangan im Blut, MnLeb = Mangan in Lebergewebe, ARG = Arginase, MnK = Mangan im Knochen, HB = Hämoglobin, REP = Fruchtbarkeit

³ Ohne Angabe

GRUMMER et al. (1950) führten Versuche mit Schweinen verschiedenen Alters durch. Es kam eine Ration aus Mais, Sojaöl, Kleberprotein und Luzerne zum Einsatz. Zu einem basalen Mangangehalt von 12 mg Mn/kg wurden jeweils 0; 40; 80 und 160 mg Mn/kg als Mangansulfat zugelegt. Es konnte gezeigt werden, dass die Zulage von 40 mg Mn/kg die täglichen Zunahmen signifikant verbesserte, aber die Gruppen mit höherer Zulage wieder auf einem Niveau mit der Basalgruppe lagen. Die Zulage von 500 mg Mn/kg hatte reduzierte Futteraufnahme sowie reduzierte tägliche Zunahmen zur Folge.

PLUMLEE et al. (1956) arbeiteten mit Ferkeln und Sauen. Bei der Aufzuchtstudie verwendeten sie männliche Ferkel (Absetzgewicht 16 kg) und teilsynthetische Diäten mit jeweils 1,5; 20,5 und 34 mg Mn/kg Futter über 14 Wochen. Es wurden keine pathologischen Veränderungen an den Tieren festgestellt. Unterschiede fanden sich in den Lebermangangehalten. Hier kam es zu einer deutlichen Absinken der Gehalte bei den Tieren mit 1,5 mg Mn/kg im Futter gegenüber den beiden höheren Gruppen. Die Anhebung des Mn im Futter auf 34 mg Mn/kg hatte nur eine leichte Erhöhung des Lebermangans gegenüber der mittleren Gruppe zur Folge. In einem weiteren, länger dauernden Versuch wurden ähnliche Veränderungen auch in den anderen Organen gefunden. Des Weiteren zeigten die Tiere der niedrig supplementierten Gruppe veränderte Körperhaltung. Auch bei Sauen konnten die Veränderungen der Organmanganspiegel festgestellt werden, jedoch führte auch eine Ration mit 1 mg Mn/kg Futter nicht zu reduzierter Fruchtbarkeit. Erst bei einer Wiederholung des Experimentes mit einer Ration, die lediglich 0,5 mg Mn/kg Futter enthielt, konnten in einem Langzeitversuch veränderte Knochenform, vorzeitiger Epiphysenfugenschluss und reduzierte Fruchtbarkeit beobachtet werden

Etwa zeitgleich studierten auch NEHER et al. (1956) die im Manganmangel äußerlich sichtbaren Veränderungen im Knochenbau näher. Mittels Röntgenuntersuchungen stellten sie neben Verkürzung von Radius, Ulna, Metakarpalknochen, Tibia, Fibula und Metatarsalknochen auch eine relative Verschiebung der Epiphysenfugen von Radius und Ulna zueinander fest. Die distalen Enden von Radius und Ulna waren verdickt. Die Epiphysenfugen stellten sich unschärfer dar und es traten Areale im Knochen mit ausgedünnter Struktur auf. Im Tarsalbereich traten diese Veränderungen schwächer auf.

Auch LEIBHOLZ et al. (1972) beschreiben mehrere Experimente mit Schweinen verschiedenen Alters. Das erste Experiment wurde mit früh abgesetzten Ferkeln durchgeführt. Die Ferkel wurden bereits im Alter von 14 Tagen abgesetzt und erhielten eine manganarme Basisdiät mit einem Gehalt von weniger als 1 mg/kg Mn verabreicht. Eine Kontrollgruppe erhielt die gleiche Diät, jedoch um 40 mg Mn/kg aufgewertet. Bei den manganarm gefütterten Individuen wurden signifikant erniedrigte Mangangehalte in Leber und Niere sowie erniedrigte Aktivitäten der alkalischen Phosphatase

im Knochen gefunden. Alle anderen Parameter wie Mangengehalt im Knochen und Muskel, Aktivität der alkalischen Phosphatase in Niere, Serum und Leber sowie die Arginaseaktivität in der Leber zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Im zweiten Experiment wurden Sauen vor dem Abferkeln über einen Zeitraum von 6 Wochen und in der folgenden Säugephase manganarm (9 mg Mn/kg, Kontrollgruppe 117 mg Mn/kg) ernährt. Die Ferkel wurden am 12. Lebenstag abgesetzt. Einige wurden sofort getötet, die anderen wurden über 6 Wochen aufgezogen und dabei ebenfalls manganarm ernährt. In der Aufzucht wurde eine teilsynthetische (jeweils 0,4 mg Mn/kg und 40,5 mg Mn/kg) mit einer nativen Diät (jeweils 11,8 mg Mn/kg und 51,8 mg Mn/kg) verglichen. Pathologische Erscheinungen wurden weder bei den Sauen noch den Ferkeln beobachtet, lediglich die Organmangangehalte waren von der Diät beeinflusst. In einem weiteren Experiment wurden auch noch Auswirkungen von extrem hohen Mangangehalten (4000 mg Mn/kg Futter) im Futter untersucht. Hier kam es lediglich zu einem tendenziellen Absinken der täglichen Gewichtszunahme.

BURCH et al. (1975) verglichen Ferkel, die für 6 Wochen mit 0,59 bzw. 22 mg Mn/kg gefüttert worden waren. Es zeigten sich dabei keine Einflüsse auf die Leistung der Tiere. Neben reduzierten Mangangehalten in Leber, Niere, Muskel Lunge und Gehirn konnte auch eine deutliche Abnahme der Arginaseaktivität sowie eine leichte Abnahme der Isocitratdehydrogenaseaktivität in der Leber nachgewiesen werden.

KAYONGO-MALE (1980) untersuchte die Auswirkung einer im Mangengehalt abgestuften Ration (0,46; 2,67 und 6,34 mg Mn/kg Futter) auf Ferkel von Sauen, die manganarm gefüttert wurden. In der niedrigsten Gruppe wurde eine negative Manganbilanz gefunden, in den anderen Gruppen eine positive. Die mittlere Gruppe hatte die geringsten täglichen Gewichtszunahmen. In der niedrigsten Gruppe war das Serummagnesium reduziert, das Serummangan stieg mit zunehmender Versorgung an. Die Tiere zeigten keine Knochenverkümmungen.

Bei Sauen wurde ein Einfluss der Manganversorgung auf die Fruchtbarkeit untersucht. Obwohl bei einer Versorgung mit 5 mg Mn/kg im Vergleich zu 10 und 20 mg Mn/kg weniger Tiere innerhalb der ersten 7 Tage post partum Östrus zeigten, waren trotz einer Versuchsdauer über 3 Graviditäten keinerlei signifikante Unterschiede nachweisbar (CHRISTIANSON et al. 1989). Auch in der Gravidität führte eine Supplementierung bis 100 mg Mn/kg zu keiner Leistungssteigerung der Zuchtsauen (RHEAUME und CHAVEZ 1989).

2.12.2 Absorption und Exkretion

MATRONE et al. (1959) führten Studien zum Eisen-Manganantagonismus mit frisch geborenen Ferkeln durch. Hier wurde lediglich die Hämoglobinsynthese in Abhängigkeit verschiedener Mangan- (bis 2000 mg Mn/kg Futter) und Eisengehalte (bis 400 mg Fe/kg Futter) im Futter untersucht. Hohe Mn-Gaben hemmten die Hämoglobinsynthese und die Körpergewichtsentwicklung. Beide Beobachtungen waren nach Futterumstellung reversibel. Schon ab 50 mg Mn/kg Futter konnte bei wachsenden Ratten eine leichte Hemmung der Hämoglobinsynthese beobachtet werden (HEISEKE und KIRCHGESSNER 1979).

Verschiedene Versuche zeigten, dass eine Komplexierung von Mangan durch Phytinsäure keine sehr große Rolle spielt. Wenn Verbesserungen der Manganverwertung durch Phytasezusatz erzielt werden konnten, so waren diese nur von geringem Umfange (PALLAUF et al. 1992, ADEOLA et al. 1995, WINDISCH und KIRCHGESSNER 1996). Auch der Einsatz von Citronensäure im Futter brachte keine Verbesserung der Manganverwertung mit sich (HÖHLER und PALLAUF 1994). Citronensäure kompetitiert mit der Phytinsäure um zweiwertige Kationen (besonders Zn^{2+}) wobei allerdings der Citronensäurekomplex besser verfügbar ist und eine Verbesserung der Verwertung resultiert. Der geringe Einfluss von Phytinsäure auf die Manganverwertung lässt sich auch mit der geringen Stabilität des Phytinsäure-Mangan-Komplexes *in vitro* begründen (KRATZER und VOHRA 1986, siehe 2.4.3).

KAYONGO-MALE (1980) untersuchten den Einfluss verschiedener Verbindungen auf die Verwertung des Mangans durch Bilanzierung der Mn-Aufnahme und Ausscheidung in Urin und Faeces. Zu einer Basisration mit 16 mg Mn/kg Futter wurden jeweils 10 mg Mn/kg Futter als $MnSO_4 \times H_2O$, $MnCO_3$, MnO zugelegt. Es waren jedoch keine Unterschiede hinsichtlich der Verwertung feststellbar.

ATKINSON et al. (1993) untersuchten die Auswirkung von unterschiedlich kombinierten Zulagen von Calcium, Phosphor, Zink, Kupfer und Eisen auf die wahre Absorption von Selen, Mangan, Eisen, Zink und Calcium von Ferkeln zwischen dem 5. und 30. Lebenstag. Es wurde die Retention von verabreichtem ^{65}Zn , ^{54}Mn , ^{59}Fe , ^{75}Se , ^{47}Ca durch Szintillationszählung festgestellt. Dabei diente ^{51}Cr zur Erfassung der Darmpassagezeit. Als wahre Absorption wurde der Anteil angenommen, der nicht innerhalb von 6 Tagen, wie das ^{54}Cr , wieder ausgeschieden wurde. Es konnte hier kein Effekt auf die Verwertung des ^{54}Mn durch die verschiedenen Zulagen gezeigt werden.

2.12.3 Manganversorgung der Ferkel in uteri

Während der Zeit im Uterus ist der Fetus auf die Versorgung durch das Muttertier angewiesen. Dass die Leibesfrucht in der Regel stärker von Mangelercheinungen betroffen ist als die Sau selber, unterstreicht die Bedeutung der Manganversorgung von reproduzierenden Sauen. Schon bei einer Versorgung der Sau mit 6 mg Mn/kg Futter nimmt die Manganretention in den Früchten deutlich ab (NEWLAND und DAVIS 1961). KIRCHGESSNER et al. (1981) konnten zudem nachweisen, dass auch das Mangan einem Trächtigkeitsanabolismus unterliegt, was bedeutet, dass das Muttertier die Manganretention über die Abgabe an die Früchte und deren Adnexe hinaus steigert. Die Placenta ist für Mangan weitgehend permeabel mit der Folge, dass parenterale ^{54}Mn -Gaben zu 25% dauerhaft in die Früchte transferiert werden (GAMBLE et al. 1971).

2.12.4 Mangangehalt in der Sauenmilch

Wie die Milch anderer Säuger ist auch die Milch der Sau sehr arm an Mangan. Der Gehalt ist nicht konstant, sondern steigt mit zunehmender Reife der Milch von 50 µg/kg im Kolostrum bis etwa 130 µg/kg FM an (KIRCHGESSNER et al. 1982). Diese Werte sind nur in geringem Umfang durch die alimentäre Zufuhr beeinflussbar (LEIBHOLZ et al. 1972, RHEAUME und CHAVEZ 1989). Wie beim Kaninchen gezeigt wurde (PALLAUF et al. 1993), ist jedoch auch bei der Sau davon auszugehen, dass der Mn-Spiegel der Milch im deutlichen Manganmangel erheblich absinkt.

2.12.5 Empfehlungen zur Manganversorgung

Zur Zeit gelten die in Tabelle 4 aufgeführten Empfehlungen verschiedener Organisationen zur Manganversorgung des Ferkels. Interessant sind die großen Differenzen zwischen den einzelnen Empfehlungen. Die Werte werden in den genannten Schriften kaum begründet. Anhand der in diesen Werken zitierten Studien konnte der Manganbedarf nur geschätzt werden. Während ARC (1981) einen weiten Bereich für die gesamte Schweinemast angibt, sind die Empfehlungen nach NRC (1998) sehr detailliert, beziehen sich auf kurze Leistungsabschnitte und sind allgemein sehr niedrig. Die Angaben nach INRA (1989) sind mit Abstand am höchsten, jene nach GfE (1987) liegen im mittleren Bereich.

Tabelle 4: Derzeitige Empfehlungen zur Versorgung von Ferkeln mit Mangan

	<i>NRC</i> 1998	<i>INRA</i> 1989	<i>ARC</i> 1981	<i>GfE</i> 1987
Alter/Gewicht	Ferkel bis 20 kg	Ferkel	Schweine unter 90 kg	Ferkel
Mangangehalt im Futter	3 – 4 mg/kg FM (bei 90% TM)	40 mg/kg FM	4 – 16 mg/kg TM	15 – 20 mg/kg TM

3 Fragestellung und Versuchsdesign

Ziel dieser Arbeit war es, präzisere Angaben zum Manganbedarf des Schweines zu ermitteln. Ausgangspunkt waren die sehr differierenden Angaben in der Literatur. Problematisch war zudem, dass die bisher vorliegenden Ergebnisse überwiegend älteren Datums sind. Seit diese Experimente durchgeführt wurden, hat sich die Leistung der Mastschweine deutlich erhöht. Somit ist auch mit einer Zunahme des täglichen Manganbedarfes zu rechnen. Weiterhin hat die Technologie zur Messung von Mangan in geringer Konzentration deutliche Fortschritte gemacht, so dass heute Effekte erkannt werden können, die vor 50 Jahren unter der Nachweisgrenze lagen oder durch Meßungenauigkeiten überlagert wurden.

Da in der heutigen Zeit die Fütterung immer stärker den altersspezifischen Bedürfnissen der Tiere angepasst wird, wurde die Studie auf einen definierten Abschnitt der Schweineproduktion, die Ferkelaufzucht, beschränkt. In dieser Phase werden die Grundlagen für die folgende Mast gelegt, wodurch diesem Abschnitt eine besonders wichtige Bedeutung zukommt.

Die vier in der Literaturübersicht aufgeführten Empfehlungen zur Manganversorgung legten die obere Grenze des zu untersuchenden Bereiches. Dabei sollte der Mangangehalt auch möglichst weit bis hin zu einer Mangelration abgesenkt werden. Das heißt, der Zielbereich war damit auf den Bereich <1 bis etwa 30 mg Mn/kg Futter festgelegt. Die Manganzulage erfolgte in 6 Stufen, wobei die Abstufung logarithmisch statt fand (jeweils 0; 2; 4; 8; 16 und 32 mg Mn/kg Futter).

4 Material und Methoden

4.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden 42 männliche Masthybridferkel, eine Kreuzung aus Pietrainebor und BW-Hybridsau (Sauenhybridlinie des Schweinezuchtverbandes Baden-Württemberg e.V., Stuttgart-Plieningen) direkt aus dem Erzeugerbetrieb von Landwirtschaftsmeister Josef Scheffold aus Baustetten bezogen. Die Tiere erhielten dort in den ersten Lebensstagen eine einmalige Eiseninjektion von 200 mg Eisen in Form von Eisendextran und wurden kastriert. Am 21. Lebenstag wurden die Ferkel von der Sau abgesetzt, erhielten eine fortlaufend nummerierte Ohrmarke und wurden alsbald in das Stoffwechsellabor des Instituts für Tierernährung gebracht. Hier wurden die Tiere gewogen und bekamen zur Parasitenprophylaxe Ivomec® (0,3 mg Ivermectin pro kg Körpermasse) intramuskulär verabreicht. Anschließend wurden sie zufällig in drei Gruppen aufgeteilt und im Quarantänestall des Stoffwechsellabors zur Eingewöhnung für 5 Tage aufgestellt. Sie erhielten Futter und Wasser *ad libitum*. Am ersten Tag wurde ausschließlich das gewohnte, aus dem Herkunftsbetrieb mitgelieferte Futter gefüttert. In den nächsten Tagen wurde dann sukzessiv manganarme Versuchsdiet untergemischt. Am 5. Tag wurde ausschließlich das Versuchsfutter gefüttert.

Am sechsten Tag erfolgte die Umstallung in 36 Stoffwechsellkäfige (6 Gruppen zu je 6 Tieren eingeteilt). Die übrigen 6 Tiere wurden in kleinen Einzelflatdecks unter sonst vergleichbaren Bedingungen wie die Versuchstiere umgestallt und dienten jeweils für eine Gruppe als Reservetier, um eventuelle Verluste zu Versuchsbeginn ausgleichen zu können.

Als Versuchszeitraum wurde die Aufzuchtphase festgelegt, also vom Absetzen bis zum erwarteten Erreichen eines Endgewichtes von 25 kg. Lediglich durch die Eingewöhnungsphase wurde der Versuchsbeginn leicht verzögert.

Die sechs Gruppen erhielten eine in der Manganzulage abgestufte teilsynthetische Versuchsdiet mit jeweils 0, 2, 4, 8, 16 und 32 mg Mn-Zulage/kg Futter vorgelegt. Die Gruppen werden dementsprechend im Folgenden mit Mn-00, Mn-02, Mn-04, Mn-08, Mn-16 und Mn-32 bezeichnet.

4.2 Rationsgestaltung

Zur Entwicklung der im Folgenden beschriebenen teilsynthetischen Ration dienten maßgeblich die Versorgungsempfehlungen nach NRC (1998). Diesen Empfehlungen folgend wurde die Fütterung in zwei Phasen gegliedert, im weiteren bezeichnet der Begriff „Starterfutter“ die erste, „Ferkelfutter“ hingegen die zweite Phase.

Voraussetzung für eine Abstufung der Ration bis hinab zum Mangel sind manganarme Futterkomponenten. Mögliche Komponenten wurden vor Beginn der Rationsplanung auf ihren Mangangehalt mittels ICP-AES (siehe 4.4.2) überprüft.

Als Energiequellen wurden schließlich Maisstärke, Sojaöl und Glucose gewählt. Als Proteinquelle diente sprühgetrocknetes Magermilchpulver, dessen Eiweiß durch DL-Methionin und L-Threonin aufgewertet wurde. Rohfaser wurde als Zellulose in Form des Produkts „Arbocel® Bww 40“ der Firma Rettenmeier und Söhne (Rosenberg) zugesetzt. Zur Ergänzung von Mengenelementen, Spurenelementen und Vitaminen sowie zum Zweck der Manganzulage wurden jeweils Vormischungen angefertigt.

Die Zusammensetzung der Diäten ist in Tabelle 5 aufgeführt, die sich rechnerisch ergebenden Inhaltsstoffeckdaten in Tabelle 6.

Tabelle 5: Zusammensetzung der teilsynthetischen Versuchsdät für Ferkel

<i>Komponente</i>	<i>Starterfutter</i>	<i>Ferkelfutter I</i>
Magermilchpulver	52,00%	46,00%
Maisstärke	25,19%	31,76%
Glucose	7,00%	6,00%
Sojaöl	4,00%	4,00%
Zellulose	6,00%	6,50%
DL-Methionin	0,20%	0,16%
L-Threonin	0,11%	0,08%
Mengenelementvormischung	3,00%	3,00%
Spurenelementvormischung	1,00%	1,00%
Vitaminvormischung	1,00%	1,00%
Manganvormischung	0,50%	0,50%

Tabelle 6: Kalkulierte Inhaltsstoffe der Diäten

		<i>Starterfutter</i>	<i>Ferkelfutter</i>
Energie	MJ ME / kg FM	15	15
Rohproteingehalt	g/kg FM	184	163
Lysingehalt	g/kg FM	14,9	13,2
Methionin+Cysteingehalt	g/kg FM	8,3	7,2
Threoningehalt	g/kg FM	9,5	8,2
Tryptophangehalt	g/kg FM	2,7	2,4
Calciumgehalt	g/kg FM	8,9	8,3
Phosphorgehalt	g/kg FM	7,2	6,7

4.2.1 Vormischungen

Bei allen aufgeführten Vormischungen wurde Maisstärke als Träger verwendet. Die Mischungen wurden in einem Präzisionsmischer (Typ V250, Fa. Diosna, Osnabrück) hergestellt. Die Mischdauer betrug 18 min, bei schnelllaufendem Vertikalrührer (Hauptrührer) und langsam laufendem Horizontalrührer (Zerhacker). Die Manganvormischungen wurden in einem Horizontallabormischer (Typ M20GREI, Fa. Lödige, Paderborn) für jeweils 30 min gemischt.

Zum Ausgleich der Mineralstoffgehalte wurde jeweils eine Vormischung für Mengenelemente und eine für Spurenelemente hergestellt. Das Studium der Spezifikationen der Chemikalienlieferanten zeigte bei den geeigneten Verbindungen, dass mit relativ hohen Mangankontaminationen in den Eisenverbindungen zu rechnen war. Daher wurde vor Planung der Vormischungen eine engere Auswahl von Verbindungen auf ihren Mangangehalt analysiert.

In den Grundkomponenten Magermilchpulver, Maisstärke, Glucose und Zellulose wurden zu Beginn die Gehalte von Eisen, Calcium, Kupfer, Magnesium, Mangan, Phosphor und Zink mittels ICP-AES (siehe 4.4.2) analysiert. Die so bestimmten nativen Gehalte (Anhangstabelle 1) wurden bei der Herstellung der Vormischungen berücksichtigt.

4.2.1.1 Mengenelementvormischung

Nach Berücksichtigung der nativen Gehalte mussten von den Mengenelementen, lediglich Calcium, Natrium und Phosphat ergänzt werden. Sie wurden in Form von Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4) und Calciumcarbonat (CaCO_3) ergänzt und an Maisstärke als Träger angemischt (Tabelle 7).

Tabelle 7: Mengenelementvormischung für Ferkeldiät

<i>Komponente</i>	<i>Anteil (g/kg Diät)</i>
NaH_2PO_4	11,5
CaCO_3	8,5
Maisstärke	ad 30

4.2.1.2 Spurenelementvormischung

Bei den Spurenelementen wurden die Verbindungen Kupfersulfat-Pentahydrat, Kaliumiodid, Eisen-III-chlorid-Hexahydrat, Natriumselenit, Zinksulfat-Heptahydrat, Natriummolybdat-Dihydrat, Natriumfluorid und Cobaltsulfat-Heptahydrat zugesetzt (Tabelle 8). Speziell die Auswahl einer adäquaten Eisenquelle stellte ein größeres Problem dar, denn selbst in der Reinheitsstufe „pro analysi“ enthielten die meisten geeigneten Verbindungen laut Spezifikation noch größere Mengen an verunrei-

nigendem Mangan. Daher wurde der Mangengehalt verschiedener Verbindungen mittels ICP-AES gemessen. Anhand dieser Messergebnisse wurde Eisen-III-chlorid-Hexahydrat, welches mit Abstand den niedrigsten Mangengehalt aufwies (Anhangstabelle 2), gewählt.

Tabelle 8: Spurenelementvormischung für Ferkeldiät

<i>Element</i>	<i>Verbindung</i>	<i>Summenformel</i>	<i>Anteil der Verbindung (mg/kg Diät)</i>
Kupfer	Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat	$\text{CuSO}_4 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$	39
Iod	Kaliumiodid	KI	3
Eisen	Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat	$\text{FeCl}_3 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$	726
Selen	Natriumselenit-Pentahydrat	$\text{Na}_2\text{SeO}_3 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$	1,2
Zink	Zinksulfat-Heptahydrat	$\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	484
Molybdän	Natriummolybdat-Dihydrat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$	0,5
Fluor	Natriumfluorid	NaF	1,1
Cobalt	Cobaltsulfat-Heptahydrat	$\text{CoSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	1,9
Maisstärke			ad 10.000

4.2.1.3 Vitaminvormischung

Auch die Vitamine wurden in einer Vormischung angemischt (Tabelle 9). Hierbei blieben die nativen Gehalte der Futterkomponenten unberücksichtigt. Die Dosierung der Vitamine erfolgte zudem über den bei NRC angegebenen Bedarf hinaus, um auch bei Zerstörung von Vitaminen während der Futterherstellung noch eine ausreichende Versorgung sicher zu stellen. Sämtliche Vitamine wurden von der Firma Roche (Grenzach-Wyhlen) bezogen.

Tabelle 9: *Vitaminvormischung für Ferkeldiät*

<i>Komponente</i>	<i>Anteil(je kg fertige Diät)</i>
Vitamin A	10.000 IU
Vitamin D ₃	1000 IU
Vitamin E	50 IU
Vitamin K	3 mg
Biotin	0,3 mg
Cholin	150 mg
Folsäure	2 mg
Niacin	4.0 mg
Pantothensäure	3.0 mg
Vitamin B ₂	1.0 mg
Vitamin B ₁	3 mg
Vitamin B ₆	4 mg
Vitamin B ₁₂	50 µg
Inosit	3 mg
Vitamin C	100 mg
Maisstärke	ad 10 g

4.2.1.4 Manganzulage

Der native Mangangehalt der Grunddiät wurde nach Analyse sämtlicher verwendeter Grundkomponenten berechnet und ergab 0,17 mg/kg. Die Manganzulage der Diäten der einzelnen Abstufungen erfolgte unter Berücksichtigung dieses Wertes. Für jede der einzelnen Manganstufen wurde jeweils eine eigene Vormischung angefertigt. Die Zulage erfolgte als Mangansulfat-Dihydrat, welches wiederum in Maisstärke eingemischt wurde. Dazu wurde Mangansulfat-Dihydrat im Mörser zerrieben und in einen weiteren Mörser, der bereits mit Maisstärke ausgerieben war, eingewogen. Da hier Verhältnisse von minimal 2 g Mangansulfat-Dihydrat auf 2 kg Maisstärke gemischt werden mussten, erfolgte im Mörser bereits eine manuelle Einmischung in etwa 100g Maisstärke. Um Verschleppungen und Kontaminationen zu vermeiden wurden alle Gegenstände einschließlich Mischer 2 Tage vor der Anwendung mit entmineralisiertem Wasser gespült und zur Trocknung stehen gelassen. Die Herstellung der Mischungen erfolgte ausschließlich mit aufsteigenden Mangangehalten.

4.2.2 Herstellung der Diäten

Auch die Diäten wurden im Präzisionsmischer (Diosna V250) gemischt. Hier wurden zunächst nur die pulverigen Komponenten für 18 min gemischt. Erst danach wurde, vor einem weiteren Mischvorgang von 18 min, das Sojaöl hinzugefügt. Die Herstellung der Diäten des Ferkelfutters erforderte die Mischung von jeweils drei Chargen pro Manganstufe. Auch hier wurde immer mit aufsteigenden Mangangehalten gemischt.

Ein Pelletierversuch mit diesem Futter in der institutseigenen Pelletierpresse schlug fehl. Das Futter wurde daher in pulveriger Form verfüttert.

4.3 Versuchsdurchführung

4.3.1 Aufstallung

Die Versuchstiere wurden in Edelstahlstoffwechsellkäfigen (Firma EBEKO Eisen- und Metallverarbeitung, Castrop-Rauxel) aufgestellt, während die Reservetiere in einem Nachbarraum unter vergleichbaren Klimabedingungen einzeln in kleinen Buchten aufgestellt wurden.

4.3.2 Klimabedingungen

Der Raum in dem der Versuch stattfand wurde, dem Alter der Ferkel entsprechend nach dem in Tabelle 10 abgebildeten Temperaturprogramm klimatisiert. Der Raum verfügte über Fenster die den Einfall von Tageslicht zuließen. Darüber hinaus wurde von morgens 8:00 bis abends um 18:00 Uhr künstlich beleuchtet. Die relative Luftfeuchte lag zwischen 60 und 80%.

Tabelle 10: Temperaturprogramm während der Versuchsphase

<i>Versuchswoche</i>	<i>Temperatur</i>
1	25°C
2	25°C
3	23,5°C
4	22°C
5	21°C
6	20°C

4.3.3 Tränke und Fütterung

Die Tiere erhielten entionisiertes Wasser *ad libitum*. An den ersten 14 Versuchstagen bekamen die Tiere 3 mal täglich Starterfutter für etwa eine halbe Stunde vorgelegt. Danach erfolgte die Fütterung nur noch 2x täglich für etwa eine halbe Stunde mit Ferkelfutter. Die Fresszeitbegrenzung wurde vorgenommen, um eine möglichst vollständige Aufnahme des Futters und minimale Spielverluste sicher zu stellen. Die Futterzuteilung erfolgte in einem solchen Maße, dass etwa die Hälfte der Tiere ihr Futter in der besagten Zeit vollständig aufnehmen konnte („*semi ad libitum* Fütterung“). Damit sollten zu starke Abweichungen des Wachstums und Futterreste vermieden werden. Die Fütterung erfolgte aus tarierten Kunststoffschalen. Die Schalen wurden nach der Fütterung eingesammelt und die Futterreste zurück gewogen.

4.3.4 Wägung

Jeweils am 1., 8., 15., 22., 29., 36. und 43. Versuchstag wurden die Tiere gewogen, nachdem sie zuvor über Nacht genüchert wurden. Um Wägefehler durch Bewegungen der Tiere zu vermeiden wurde die Wägung mit einer Waage durchgeführt, welche über ein dynamisches Wiegeprogramm verfügt (EB35EDE, Fa. Sartorius, Göttingen). In dieser Betriebsart muss sich die Wage nicht einpendeln, sondern erfasst das Gewicht mehrfach über einen Zeitraum von etwa 10 Sekunden und bildet den Mittelwert aus den Einzelergebnissen.

4.3.5 Kot- und Urinsammlung

In der 3. und 6. Versuchswoche wurde Kot und Harn der Tiere gesammelt. Der Kot wurde täglich gewogen und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren. Jeweils am Ende der Sammelperiode wurde der Kot jeweils eines Tieres in einem Kutter homogenisiert und so eine repräsentative Probe von etwa 1 kg gebildet, die bis zur weiteren Analyse bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren wurde.

Das Harnvolumen wurde ebenfalls täglich erfasst und jeweils ein Zehntel der Tagesmenge bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

4.3.6 Blutentnahme

Am 1., 15., 29. und 43. Tag wurde je Tier jeweils eine Blutprobe durch Punktion der *Vena cava cranialis* gewonnen. Hierzu wurden die Tiere bei den ersten beiden Entnahmen in Rückenlage fixiert. Die letzten beiden Entnahmen erfolgten am stehenden, durch eine Oberkieferschlinge fixierten Tier. Die Entnahme erfolgte mittels steriler Einwegkanülen (TSK-Supra, Durchmesser 1,2 mm, Länge 120 mm) und Monovetten[®] (Fa. Sarstedt, Nümbrecht). Als Antikoagulans wurde EDTA (1 mg / ml Blut) verwendet. Für die Mineralstoffanalyse wurden jeweils etwa 6 ml der Probe in ein 10ml Polypropylen-Zentrifugenröhrchen umgefüllt und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren. Der Rest wurde für die hämatologische Untersuchung bei Raumtemperatur aufbewahrt. Bei der letzten Blutentnahme wurde jeweils eine zweite Probe in einer heparinisierten Kabevette[®] (KABE, Elsenroth, 0,75 mg Heparin / ml Blut) entnommen. Von der heparinisierten Probe wurde durch Zentrifugieren bei 1000 g und $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 15 min Plasma gewonnen und in Eppendorf-Mikroreaktionsgefäßen bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

4.3.7 Schlachtung

Am 46. Versuchstag wurden die Tiere geschlachtet. Zuvor wurden sie über Nacht genüchtert. Die Betäubung erfolgte mittels einer elektrischen Betäubungszange. Nach erfolgter Betäubung wurden die Tiere mit dem Kopf nach unten hängend durch Eröffnung der *Vena cava cranialis* entblutet. Sofort nach Eintreten des Todes wurden die inneren Organe entnommen und zur späteren Untersuchung repräsentative Proben eingefroren. Um eventuelle gruppenspezifische Effekte durch unterschiedliche Tageszeit der Schlachtung auf Ergebnisse der späteren Untersuchungen so gering wie möglich zu halten, wurde zuerst jeweils ein Tier aus allen 6 Gruppen geschlachtet, dann erst jeweils das zweite Tier jeder Gruppe, und so weiter.

4.3.8 Probenentnahme

Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurde der Magen-Darmtrakt entfernt. Am Magen-Darm-Konvolut wurde das Pankreas aufgesucht und stumpf vom Gekröse gelöst. Ein etwa würfelförmiges Stück mit etwa 5 mm Kantenlänge wurde in sterilen Eppendorfgefäßen, in 1,5 ml RNA-Later® (Fa. Qiagen, Hilden) für mögliche spätere Genexpressionsanalysen eingelegt. Der Rest wurde für Mineralstoff- bzw. biochemische Analyse in zwei etwa gleich große Portionen aufgeteilt und unter den in Tabelle 11 aufgeführten Bedingungen gelagert.

Danach wurde die Leber entnommen, die Gallenblase vorsichtig herausgelöst und die Gallenflüssigkeit in einer Polyethylenflasche aufgefangen. Die Leber wurde gewogen und vom Lobus sinister der Leber wurden jeweils 2 Stücke von etwa 3x3x1cm Größe für Mineralstoff- bzw. biochemische Analysen abgetrennt sowie ein drittes würfelförmiges Stück mit etwa 5mm Kantenlänge entnommen, welches umgehend in 1,5 ml RNA-Later® eingelegt wurde.

Vom rechten Lungenflügel wurden am Lobus caudalis jeweils zwei etwa 3x3x1 cm große Stücke für Mineralstoff- bzw. biochemische Analysen abgetrennt.

Das Herz wurde vollständig entblutet, gewogen und zwei etwa 3x3x1 cm große Stücke von der Herzspitze entnommen.

Als Skelettmuskelprobe wurden zwei 3x3x1 cm große Stücke aus dem Musculus longissimus¹ etwa in Höhe der letzten Rippe entnommen.

Die jeweils linke Niere wurde als Ganzes entnommen, aus ihrer Kapsel gelöst, gewogen und jeweils 2 etwa 3x3x1cm große Stücke von den Polen entnommen.

¹ Entgegen der in der Fleischwirtschaft gebräuchlichen Bezeichnung „Musculus longissimus dorsi“ findet hier die Nomenklatur nach NICKEL et al. (1992) „Musculus longissimus“ Verwendung.

Die rechte Vordergliedmaße wurde jeweils zunächst im Schultergelenk abgesetzt und vorerst als Ganzes bei -20°C eingefroren. Einige Tage später wurde sie wieder angetaut und der Humerus, die *Ossa metacarpalia* (zusammenhängend) und die proximalen Phalangen präpariert. Nach der Präparation wurden die einzelnen Proben wiederum bei -20°C eingefroren.

Des Weiteren wurde vom Rippenbogen ein etwa 5 cm langes knorpeliges Stück entnommen und ein etwa 5 cm langes Stück der Trachea.

Die einzelnen Proben wurden bei den in Tabelle 11 abgebildeten Temperaturen gelagert. Die Proben für biochemische Analysen wurden möglichst schnell nach der Entnahme in Kunststoffbeutel verpackt und in flüssigem Stickstoff schockgefrostet. Die in RNA-Later eingelegten Proben wurden zur optimalen Durchdringung für 24 Stunden bei 8°C gelagert. Danach wurde die nicht aufgenommene Flüssigkeit dekantiert und die Proben zur späteren Genexpressionsanalyse bei -80°C gelagert.

Tabelle 11: Probenentnahme aus Schlachtkörper

<i>Probe</i>	<i>Archivierung / Untersuchungsziel</i>		
	Mineralstoffanalyse -20°C	Biochemische Analysen -80°C	Genexpressionsanalyse -80°C RNA-Later [®]
Galle	x		
Herzmuskel	x	x	
Knochen	x		
Leber	x	x	x
Lunge	x	x	
Niere	x	x	
Pankreas	x	x	x
Rippenknorpel	x		
Skelettmuskel	x	x	
Trachealspange	x		

4.3.9 Vermessung von Radius und Ulna

Da die Veränderungen durch Manganmangel vor allem die Knochen der Gliedmaßen betreffen, wurde jeweils Radius und Ulna der rechten Gliedmaße vermessen. Erfasst wurden Gewicht, Abstand von proximaler zu distaler Gelenkfläche (Abbildung 3, Ziffer 3 bis 8) sowie maximaler Durchmesser der proximalen Gelenkfläche (Abbildung 3, Ziffer 3). Die Messungen wurden mittels einer Schieblehre vorgenommen.

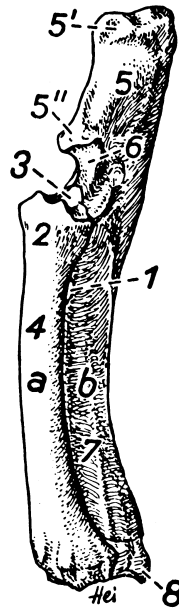


Abbildung 3: Anatomie von Radius und Ulna des Schweines nach NICKEL et al. (1992)
 3: proximale Gelenkfläche
 8: distale Gelenkfläche

4.4 Analytische Methoden

4.4.1 Analytische Kontrolle der Futtermischungen

Von Starter- und Ferkelfutter wurde jeweils eine Probe gezogen und zur Kontrolle routineanalytisch untersucht. Bestimmt wurde der Rohfettgehalt (XL), Rohproteingehalt (XP), Stärke (XS) und Zucker (XZ). Die Rohfaser (XF) wurde nicht bestimmt, sondern es wurde bei den folgenden Berechnungen davon ausgegangen, dass das eingemischte Arbocel® zu 100% als Rohfaser, bzw. präziser ausgedrückt als säurelösliche Faser (acid detergent fibre, ADF), identifiziert wird und die anderen Komponenten keine relevante Rohfaser enthalten.

Die Bestimmung der Rohnährstoffe wurde nach den VDFULA-Methoden (NAUMANN und BASSLER 1997) durchgeführt. Die Rohproteinbestimmung erfolgte nach der Variante von Dumas im CN-Analysator (Variomax CN, Fa. Elementar Analysensysteme, Hanau). Die Stärkebestimmung erfolgte mittels Stärkehydrolyse und anschließender Polarimetrie und die Rohzuckerbestimmung gravimetrisch nach Fehling. Bei der Rohfettextraktion wurde n-Hexan verwendet.

Die umsetzbare Energie (ME) wurde aus diesen Ergebnissen mit der nach Futtermittelverordnung gültigen Formel (Gleichung 4) in ihrer aktuell gültigen Fassung geschätzt.

$$ME (MJ) = 0,0218 XP + 0,0314 XL + 0,0171 XS + 0,0169 XZ + 0,0081 OR - 0,0066 ADF$$

$$\text{mit: } OR = TM - XA - XP - XL - XS - XZ - ADF$$

Gleichung 4

4.4.2 Mineralstoffanalysen

Eine engere Auswahl von Einzelfuttermitteln und Zusatzstoffen wurde vor Beginn der Rationsplanung auf Mineralstoffe, speziell Mangan, analysiert. Des Weiteren wurden auch drei Eisendextran-Präparate, wie sie an Ferkel appliziert werden, untersucht (Anhangstabelle 3).

Im folgenden Überblick sind die untersuchten Proben nach Gruppen aufgelistet:

Zusatzstoffe:

- | | |
|---------------------------|-----------------------------|
| 1. Calciumcarbonat | 8. Kochsalz |
| 2. Calciumformiat | 9. Kupfersulfat |
| 3. DL-Methionin | 10. L-Threonin |
| 4. Eisenchlorid | 11. Magnesiumsulfat |
| 5. Eisenfumarat | 12. Natriumhydrogenphosphat |
| 6. Eisensulfat | 13. Zinksulfat |
| 7. Kaliumhydrogenphosphat | |

Einzelfuttermittel:

- | | |
|--------------------------|-------------------------------------|
| 1. Casein getr. | 6. Sprühmagermilchpulver |
| 2. Glucose | Fa. Moha Charge 416 |
| 3. Maisstärke Amylum | 7. Sprühmagermilchpulver |
| 4. Maisstärke Roquette | Fa. Moha Charge 417 |
| 5. Sprühmagermilchpulver | 8. Zellulose Rettenmeier BC 1000 |
| Fa. Moha Charge 415 | 9. Zellulose Rettenmeier BC 1000 MD |
| | 10. Zellulose Rettenmeier Bww 40 |

Diäten und Vorstufen:

- | | |
|-----------------------------|---------------------------------------|
| 1. Mengenelementvormischung | 4. Starterfutter |
| 2. Spurenelementvormischung | (jeweils 6 Mn-Stufen) |
| 3. Vitaminvormischung | 5. Ferkelfutter (jeweils 6 Mn-Stufen) |

Alleinfuttermittel für Ferkel:

1. Cranwean (Fa. Cranswick, Münster)
2. Quickstart (Fa. Vandeberg, Grossenlueder)

Eisendextran-Präparate zur intramuskulären Applikation

1. Ferriphor 10 (Fa. Provet AG, Lyssach, Schweiz)
2. Medifer 200 (Fa. Medistar Arzneimittel-Vertrieb GmbH, Holzwickede)
3. Ursoferan 100 (Fa. BERNA Veterinärprodukte, Bern, Schweiz)

Eisendextran-Präparate zur oralen Applikation

1. Bio-Weyxin 705 K-VE (Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn)
2. Bio-Weyxin Fe-Vit-Do (Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn)

Gewebeproben

- | | |
|---------------------------------|----------------------|
| 1. Herz | 5. Niere |
| 2. Knochen (Phalanx proximalis) | 6. Pankreas |
| 3. Leber | 7. Skelettmuskel |
| 4. Lunge | 8. Gallenflüssigkeit |

Kotproben der 2. Sammelperiode

4.4.2.1 Probenaufschluss

4.4.2.1.1 Direktes Lösen

Die Zusatzstoffe wurden direkt in 0,3 N Salzsäure gelöst. Auf eine Veraschung konnte verzichtet werden, da alle Verbindungen mit Salzsäure eine klare Lösung bildeten. Es wurde jeweils 1 g Probe mit 0,3 N Salzsäure auf 25 ml aufgefüllt und die Lösung durch ein Blaubandfilter filtriert.

4.4.2.1.2 Trockenveraschung

Die Diäten, Vormischungen, Eisendextranpräparate sowie die Einzel- und Alleinfuttermittel und der Kot wurden bei 450 °C im Muffelofen verascht. Hierzu wurden jeweils 3 g Probe in einen Quarzglasiegel eingewogen und über Nacht verascht. Die Asche wurde in 3 N normaler Salpetersäure (HNO₃) gelöst, kurz aufgekocht und durch Blaubandfilter in 25 bzw 50 ml Messkolben filtriert und mit entionisiertem Wasser aufgefüllt, so dass die Säurekonzentration in der Aschelösung 0,3 N erreichte.

Der Sammelkot wurde vor der Veraschung gefriergetrocknet, in einer Moulinette® (Fa. Moulinex, Radolfzell) zerkleinert und anschließend wie die Futtermittel weiter behandelt.

4.4.2.1.3 Nassveraschung

Die Gewebeproben und die Galle wurden einer Nassveraschung unterzogen. Hierzu wurde jeweils 1 g Probe in einen Glaskolben eingewogen und 5 ml konzentrierte Salpetersäure hinzugegeben. Der Aufschluss selbst erfolgte in einem Schwermetallaufschlussgerät mit Rückflusskühler und Kühlfalle (Fa. Gerhard, Königswinter, SMA 20A mit FC 1000 Kühlaggregat, Fa. Julabo, Seelbach). Die Proben wurden langsam über einen Zeitraum von zwei Stunden auf 140 °C erhitzt und für 16 Stunden bei dieser Temperatur gehalten. Nachdem die Proben wieder abgekühlt waren, wurde der Inhalt der Aufschlusskolben durch ein Blaubandfilter filtriert und mit aqua bidest. auf 25 ml aufgefüllt. Die so erhaltene Lösung wies eine Säurekonzentration von 2,8 N auf.

Zur Herstellung der Knochenaschelösungen wurde jeweils eine komplette Phalanx proximalis (Phalanx prox., Gewicht zwischen 5 und 6 g) eingewogen. Ansonsten wurde wie bei den anderen Organen verfahren.

4.4.2.1.4 Mikrowellenaufschluß

Von den Vollblutproben wurde jeweils 1 g in Teflon-Mitteldruck-Aufschlussgefäßen eingewogen. Nach Zusatz von 3 ml konzentrierter HNO₃ sowie 1 ml H₂O₂ wurden die Hülsen verschlossen und jeweils 6 Gefäße in einen Mikrowellenofen verbracht (MLS 1200 mega, Fa. Microwave Lab Systems, Leutkirch). Die Beheizung erfolgte nach dem in Tabelle 12 abgebildeten Programm.

Tabelle 12: Heizprogramm im Mikrowellenofen für den Aufschluss von Vollblutproben

<i>Schritt</i>	<i>Leistung</i> (W)	<i>Zeit</i> (min)
1	250	3
2	0	1
3	250	8
4	350	5
5	500	5
6	300	5
7	0 / Belüften	10

Nach erfolgtem Aufschluss wurden die geöffneten Gefäße in ein Sandbad mit einer Temperatur von 140–160 °C gesetzt und unter Stickstoffbegasung bis zur Trockenheit eingeengt. Der Rückstand wurde in 1 ml 0,6 normaler HNO₃ gelöst und unfiltriert zur Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie verwendet.

4.4.2.2 Atomemissionsspektroskopie

Die Konzentrationen von Calcium, Eisen, Kupfer, Magnesium, Mangan, Phosphor und Zink in den Aschelösungen der Zusatzstoffe, Eisendextranpräparate, Einzel- und Alleinfuttermittel sowie Kotproben wurden mittels ICP-AES gemessen (Unicam 701, Fa. Unicam).

4.4.2.3 Atomabsorptionsspektroskopie

Die Mangankonzentrationen in den Aschelösungen der Diäten und Gewebeproben wurden mittels GFAAS mit Zeeman-Untergrundkorrektur (Firma Perkin-Elmer 5100PC mit AS-60 Autochanger und AAWinLab 2.61 - Softwarepaket) gemessen.

Für die Messung wurde das in Tabelle 13 aufgeführte Temperaturprogramm angewendet. Lediglich bei der Analyse der Knochenasche wurde im Schritt 4 die Temperatur auf 1000°C erhöht. Als Spülgas diente Argon. Bei der Knochenaschelösung erfolgte die Messung in Küvetten mit einer Plattform nach L'vov, ansonsten wurden Standard-Wand-Atomabsorptions-Graphitrohre verwendet. Sämtliche Messungen erfolgten bei einer Wellenlänge von 279,5 nm und einer Spaltbreite von 0,2 nm. Die Auswertung erfolgte über die Peakfläche. Das in das Graphitrohr pipettierte Volumen betrug 20 μl , jede Probe wurde 3 mal gemessen, nach jeweils 12 Proben wurde mit der Standardkurve neu kalibriert. Zur Eichung wurde eine Standardkurve von MnNO_3 (Manganstandardlösung Merck 19780.0500) mit den Konzentrationen von 1; 2,5; 5; 7,5; 10 $\mu\text{g Mn}^{2+}/\text{l}$ in 1 N HNO_3 verwendet. Zur Validierung wurden zertifizierte Proben von NIST (NIST-Weizen RM8438, NIST-Rinderleber 15776) eingesetzt.

Tabelle 13: Temperaturprogramm zur Bestimmung der Mangankonzentration in Aschelösungen mittels GFAAS

Schritt	Temperatur $^{\circ}\text{C}$	Aufheizzeit s	Haltezeit s	Gasfluss	Messung
1	90	10	40	ein	
2	120	10	40	ein	
3	500	20	20	ein	
4	900	15	20	ein	
5	2200	0	3	aus	x
6	2400	1	3	ein	

4.4.3 Blutuntersuchung

4.4.3.1 Hämatologische Untersuchung

Die hämatologische Untersuchung erfolgte im Advia[®]-Hämatologiesystem (Fa. Bayer, Leverkusen) der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität Gießen, innerhalb des Routinebetriebes. Die Messungen wurden jeweils doppelt durchgeführt.

Die Messung umfasste die Parameter:

- | | |
|---|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Rotes Blutbild <ol style="list-style-type: none"> 1. Erythrozytenzahl
(RBC = red blood count) 2. Hämoglobinkonzentration (HGB) 3. Hämatokrit
(PCV = paket cell volume) 4. Retikulozytenzahl (Retic) | <ol style="list-style-type: none"> 2. Weißes Blutbild <ol style="list-style-type: none"> 1. Leukozytenzahl
(WBC = white blood count) 2. Neutrophile (NEUT) 3. Lymphozyten (LYMPH) 4. Monozyten (MONO) 5. Eosinophile (EOS) 6. Basophile (BASO) 7. Thrombozytenzahl (PLT = platelets) |
|---|---|

Darüber hinaus wurden folgende Werte berechnet:

1. Rotes Blutbild
 1. mittleres Erythrozytenvolumen ($MCV = \frac{PCV}{RBC} = \text{mean cell volume}$)
 2. mittlerer Hämoglobingehalt in den Erythrozyten ($MCH = \frac{HGB}{RBC} = \text{mean cellular haemoglobin}$)
 3. mittlere Hämoglobinkonzentration in den Erythrozyten ($MCHC = \frac{HGB}{PCV} = \text{mean cellular haemoglobin concentration}$)
 4. Anteil Retikulozyten ($RETIC\% = \frac{Retic}{RBC} \times 100\%$)
2. Weißes Blutbild
 1. Anteil Neutrophile ($NEUT\% = \frac{NEUT}{WBC} \times 100\%$)
 2. Anteil Lymphozyten ($LYMPH\% = \frac{LYMPH}{WBC} \times 100\%$)
 3. Anteil Monozyten ($MONO\% = \frac{MONO}{WBC} \times 100\%$)
 4. Anteil Eosinophile ($EOS\% = \frac{EOS}{WBC} \times 100\%$)
 5. Anteil Basophile ($BASO\% = \frac{BASO}{WBC} \times 100\%$)

4.4.3.2 Bestimmung der Aktivitäten von Plasmaenzymen

Die Aktivitäten der α -Amylase und der Alkalischen Phosphatase im Plasma wurden im Cobas[®]-System (Fa. Roche, Mannheim) der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität Gießen routinemäßig bestimmt.

4.4.4 Biochemische Untersuchungen

4.4.4.1 Probenaufbereitung

4.4.4.1.1 Organhomogenate

Zur Bestimmung von Enzymaktivitäten wurden die Gewebeproben von Leber, Herz und Pankreas mittels eines Rotor-Stator-Homogenisators (Micca D-8, Fa. ART-Labortechnik, Müllheim) dispergiert. Es wurde jeweils 0,5 g tiefgefrorenes Gewebe in 10 ml Kunststoffzentrifugenröhrchen eingewogen, mit TRIS-Puffer (10 mM, pH 7,4) auf 5 g aufgefüllt und für etwa 10 Sekunden bei einer Drehzahl von 39 000 min⁻¹ dispergiert. Anschließend wurde das Homogenat zur Entfernung von Zelltrümmern bei 4 °C für 10 min bei einer Beschleunigung von 1200 g zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig mittels Pipette abgenommen und in Eppendorf-Mikroreaktionsgefäßen zur späteren Untersuchung bei –80 °C eingefroren.

4.4.4.1.2 Knorpelaufschluss

Da ein effizientes Dispergieren von Knorpel nicht ohne weiteres möglich war, bedurften die Knorpelproben einer anderen Aufbereitung. Es wurde hier die Digestion nach FARNDAL et al. (1982) durchgeführt. Bei dieser Methode wird der Proteinanteil des Knorpels enzymatisch in Peptide und Aminosäuren gespalten. Damit wird die Probe löslich. Die Kohlenhydratfraktion bleibt unverändert erhalten.

Als Puffer diente ein 50 mM Phosphatpuffer (pH 6,5). In diesem wurden weiterhin 2 mM N-Acetyl-Cystin und 2 mM EDTA und 0,3 g/l Papain gelöst.

Von der proximalen Gelenkfläche der Metacarpalknochen wurden mittels eines Schlaufenmessers (Fa. Hauptner) dünne Knorpelstreifen geschabt. Hiervon wurde jeweils 0,1 g in 50 ml Messkolben eingewogen. Anschließend wurde 4,9 ml Papainpuffer zugesetzt und die Ansätze für 1 h bei 65 °C im Schüttelwasserbad inkubiert.

Die Aufschlüsse wurden anschließend in Kunststoff-Spitzboden-Zentrifugenröhrchen umgefüllt und 10 min bei 4 °C und 1000 g zentrifugiert (Labofuge 400R mit Ausschwenkrotor Nr. 8172, Fa. Heraeus, Hanau), um Zelltrümmer zu präzipitieren. Im Knorpel enthaltene Lipide bildeten bei dieser Temperatur einen festen Niederschlag an der Wandung des Röhrchens in Höhe des Meniskus und wurden somit ebenfalls entfernt. Der Überstand wurde nun vorsichtig, ohne Fettpartikel mit einzusaugen, mit einer Pipette abgenommen, in Eppendorf-Mikroreaktionsgefäßen abgefüllt und zur späteren Untersuchung bei –80 °C eingefroren.

4.4.4.2 Proteinbestimmung

4.4.4.2.1 Organhomogenate

Die Messung des Proteingehaltes in den Gewebehomogenaten erfolgte mittels der Methode nach BRADFORD (1976).

Zur Herstellung von einem Liter Farbreagenz wurden 100 mg Coomassie brilliant blue unter Rühren über 2 Stunden in 47,6 ml Ethanol gelöst, anschließend mit 100 ml 85% ortho-Phosphorsäure versetzt, mit zweifach entionisiertem Wasser (aqua bidest) auf 1000 ml aufgefüllt und durch ein Blaubandfilter filtriert.

Als Standard diente 50 mg bovines Serumalbumin, welches in 100 ml 10 mM TRIS-Puffer (pH 7,4) gelöst wurde. Von dieser Lösung mit 500 mg Protein/l wurden Verdünnungen mit 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 und 450 mg/l angesetzt. Die Gewebehomogenate wurden mit TRIS-Puffer (10 mM, pH 7,4) nach Bedarf verdünnt.

Zur Messung wurde 50 µl Probe beziehungsweise Standard und 2,5 ml Farbreagenz in einer Makro-Kunststoffküvette (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) mit einer Schichtdicke von 1 cm gemischt und für 20 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Extinktion bei einer Wellenlänge von 595 nm im Photometer bestimmt (Typ 902, Fa. Büchi, Essen). Sämtliche Bestimmungen wurden als Dreifachansätze ausgeführt.

4.4.4.2.2 Knorpelaufschlüsse

Da eine Messung nach BRADFORD in den verdauten Knorpelaufschlüssen nicht mehr möglich war wurde hier die Bestimmung nach LAYNE (1957) angewendet. Bei dieser Methode wird die Fähigkeit aromatischer Aminosäuren, Licht im UV-Bereich ($\lambda = 280$ nm) zu absorbieren, genutzt. Um Interferenzen durch Nucleinsäuren zu eliminieren, erfolgt eine zweite Messung bei $\lambda = 260$ nm und eine rechnerische Korrektur (siehe Gleichung 5).

$$C_{\text{Protein}} = 1,55 \times E_{280} - 0,76 \times E_{260} \quad [\text{mg/ml}] \quad \text{Gleichung 5}$$

4.4.4.3 Bestimmungen von Glucosaminoglykanbestandteilen

4.4.4.3.1 Uronsäure

Die Uronsäure (URA) in den Knorpelaufschlüssen wurde nach der Methode von BITTER und MUIR (1962) bestimmt. Die Methode beruht auf der Bildung eines rosa Farbkomplexes von Uronsäuren mit Carbazol in stark saurem Milieu unter Anwesenheit von Borat als Katalysator. Der farbige Komplex kann bei einer Wellenlänge von $\lambda = 530 \text{ nm}$ photometrisch gemessen werden.

Der Katalysator Natriumtetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10 \text{ H}_2\text{O}$) wurde mit einer Konzentration von 25 mM in konzentrierter Schwefelsäure gelöst. Von dem Carbazol wurde eine 0,125%ige Lösung in Ethanol (98%) hergestellt. Als Standard diente eine Lösung, die 20 mg/l Glucuronolacton in *aqua dest.* enthielt.

Von dem Schwefelsäurereagenz wurde jeweils 1 ml in Eppendorf-Mikroreaktionsgefäße abgefüllt und bei -80°C über Nacht eingefroren. Auf das gefrorene Reagenz wurden dann 200 μl Probe beziehungsweise *aqua dest.* als Blindwert pipettiert, das Gefäß verschlossen und umgehend in einen Schüttler gestellt. Durch dieses Vorgehen wurde eine kontinuierliche Verdünnung der Säure an der Kontaktstelle von fester zur flüssigen Phase erreicht. Somit konnte Überhitzung und Denaturierung der Uronsäure vermieden werden.

Danach wurde der Ansatz für 10 min in einem kochenden Wasserbad inkubiert und anschließend wieder auf Raumtemperatur abgekühlt. Nun wurden 40 μl der Carbazollösung zugegeben, der Ansatz nochmals auf dem Schüttler gemischt und für 15 min in das Wasserbad gestellt.

Nachdem der Ansatz wieder auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde er in Halbmikro-Kunststoffküvetten umgefüllt und die Extinktion bei $\lambda = 530 \text{ nm}$ bestimmt.

Die Berechnung des Uronsäuregehaltes erfolgte nach der Formel:

$$C_{\text{Probe}} = \frac{E_{\text{Probe}} \times C_{\text{Standard}}}{E_{\text{Standard}}} \times V \quad [\text{mg / kg}] \quad \text{Gleichung 6}$$

4.4.4.3.2 Dimethylenblaureaktive Substanz

Die Bestimmung der sulfatierten Glykosaminoglykane (sGAG) in den Knorpelaufschlüssen wurde nach der Methode von FARNDAL et al. (1982) durchgeführt. Diese beruht auf der Metachromasie des Komplexes aus 1,9-Dimethylmethylen-Blau (DMB) und dem sulfatierten Glykosaminoglykan. Metachromasie bedeutet, dass es sich hierbei nicht um die Bildung eines farbigen Produktes handelt, sondern, dass sich lediglich das Absorptionsspektrum des ohnehin farbigen DMBs durch

die Komplexbildung verschiebt. Während freies DMB zwei Absorptionsmaxima (bei $\lambda = 592$ nm und $\lambda = 633$ nm) besitzt, liegt das Absorptionsmaximum des Komplexes bei $\lambda = 528$ nm. Prinzipiell kann die Bestimmung der Glykosaminoglykane durch Messung der Extinktionsabnahme bei $\lambda = 592$ nm oder $\lambda = 633$ nm erfolgen oder, wie hier durchgeführt, der Extinktionszunahme bei $\lambda = 528$ nm. Die Messung hat unverzüglich nach Zugabe der Probe zu erfolgen, da der Komplex zur Präzipitation neigt und sich somit die Lösung nach wenigen Minuten zu trüben beginnt, bis sich schließlich Flocken bilden.

Zur Herstellung der Farblösung wurden zunächst 16 mg DMB in 5 ml Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung wurden 2 g Natriumformiat und 2 ml Ameisensäure gegeben und mit *aqua dest.* auf einen Liter aufgefüllt.

Als Standard wurde Chondroitin-4-Sulfat verwendet. Dieses wurde mit einer Konzentration von 75 mg/l in *aqua dest.* gelöst und eine Verdünnungsreihe mit den Abstufungen 60, 55, 30 und 15 mg/l angefertigt.

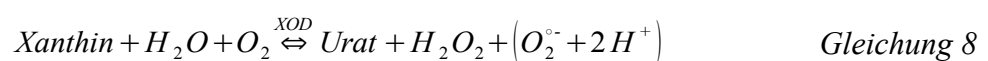
Zur Messung wurde in einer Halbmikro-Kunststoffküvette 1 ml Farbreagenz mit 100 μ l Probe beziehungsweise Standard gemischt. Alle Messungen wurden als Dreifachansatz durchgeführt. Die Messung erfolgte umgehend nach dem Mischen bei einer Wellenlänge von $\lambda = 535$ nm. Aus den Ergebnissen der Standardkurve wurden wiederum Steigung (a) und Y-Achsenabschnitt (b) ermittelt. Die sGAG-Konzentration konnte nun nach folgender Formel berechnet werden:

$$C_{sGAG} = (a \times E + b) \times V \quad [mg/g] \quad \text{Gleichung 7}$$

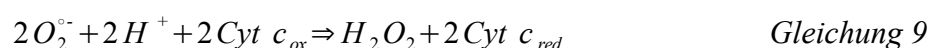
4.4.4.4 Bestimmung von Enzymaktivitäten

4.4.4.4.1 Aktivität der manganabhängigen Superoxid-Dismutase

Die Messung der Aktivität der manganabhängigen Superoxid-Dismutase (MnSOD, EC 1.15.1.1) in Gewebehomogenaten erfolgte nach der Methode von CRAPO et al. (1978). Die Methode verwendet Xanthin und Xanthinoxidase (XOD, EC 1.1.3.22) als Superoxid generierendes System. Bei dieser Reaktion werden neben dem Hauptprodukt Wasserstoffperoxid (H_2O_2) auch Superoxidradikale mit konstanter Rate freigesetzt (Gleichung 8)



Die freigesetzten Superoxidradikale reduzieren Cytochrom c (Cyt c, Gleichung 9).



Da die Absorption der reduzierten Form des Cytochrom c (Cyt c_{red}) bei einer Wellenlänge von $\lambda = 550$ größer ist als die der oxidierten Form (Cyt c_{ox}), kann die Geschwindigkeit der Reaktion mittels eines Photometers kontinuierlich verfolgt werden.

Befindet sich nun Superoxid-Dismutase (SOD) im Ansatz, konkurrieren das Cytochrom c und die SOD um die Superoxidradikale. Die SOD-Aktivität die in diesem Ansatz die Reduktion des Cytochrom c um 50% vermindert, wird als 1 Unit (U) definiert.

Da hier lediglich die MnSOD erfasst werden sollte, wurde die kupfer- und zinkabhängige Variante des Enzymes (Cu/ZnSOD) durch Zusatz von Cyanid gehemmt.

Als Puffer wurde 50 mM Kaliumphosphat (K₃PO₄, pH 7,8) verwendet.

Im Hemmungspuffer wurde zusätzlich in diesem Kaliumphosphatpuffer 2 mM Kaliumcyanid (KCN) und 0,1 mM Ethylendinitrilotetraessigsäure (EDTA) gelöst. Diese Lösung wurde bis zur Messung auf Raumtemperatur gehalten.

Das Farbreagenz enthielt 12,4 mM Cytochrom c_{ox} gelöst in Kaliumphosphatpuffer (ohne KCN). Es ist für das Gelingen der Messung essentiell, dass ein Puffer ohne Zyanid zum Lösen des Cyt c verwendet wird, da das Cyanid langsam mit dem Cytochrom reagiert und eine photometrische Messung dann nicht mehr möglich ist. Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt und bis zum unmittelbaren Gebrauch auf Eis gekühlt.

Das Xanthin wurde in einer Konzentration von 2,85 mM in Kaliumphosphatpuffer gelöst. Zur Herstellung der Xanthinoxidaselösung wurden 5 U XOD in 3 ml Ammoniumsulfat gelöst. Diese konnte bei -20 °C gelagert werden. Die Herstellung der Gebrauchslösung erfolgte durch Verdünnen im Verhältnis 1:4 mit *aqua dest.* Die Lösung wurde täglich frisch angesetzt und bis zum unmittelbaren Gebrauch auf Eis gehalten.

Zur Messung wurden jeweils 460 μ l Hemmungspuffer, 10 μ l Xanthinlösung, 10 μ l Probe, 10 μ l Cytochrom c-Lösung und 10 μ l Xanthinoxidaselösung in einer Halbmikro-Kunststoffküvette (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) gemischt, umgehend in das Photometer gesetzt und die Extinktionsänderung über 4 Minuten bei $\lambda = 550$ nm gemessen. Bei jedem Durchlauf wurde ein Blindwert, der statt der Probe Kaliumphosphatpuffer enthielt, mitgemessen.

Die in 10 mM TRIS -Puffer dispergierten Proben wurde nach Bedarf mit Kaliumphosphatpuffer verdünnt.

Als absolute Hemmung (H_{abs}) wurde die Differenz zwischen Blind- und Probenansatz festgelegt:

$$H_{abs} = \Delta E_{Blind} - \Delta E_{Probe} \quad \text{Gleichung 10}$$

Bezogen auf die maximale Reaktionsgeschwindigkeit, also den Blindwert, ergab sich die relative Hemmung (H_{rel}) in Prozent:

$$H_{rel} = \frac{H_{abs}}{\Delta E_{Blind}} = \frac{\Delta E_{Blind} - \Delta E_{Probe}}{\Delta E_{Blind}} \times 100\% \quad \text{Gleichung 11}$$

Diese Formel kann mathematisch vereinfacht werden:

$$H_{rel} = \left(1 - \frac{\Delta E_{Probe}}{\Delta E_{Blind}} \right) \times 100\% \quad \text{Gleichung 12}$$

Da die Hemmung mit der im Ansatz vorhandenen SOD-Aktivität nicht linear zusammenhängt, ist die Formel auf einen kleinen Messbereich limitiert. CRAPO et al. (1978) empfehlen, die Messungen auf Hemmungen zwischen 10% und 50% zu beschränken. Sollte dieser Bereich verlassen werden, ist die Verdünnung der Probe zu ändern und die Messung zu wiederholen.

Um von der H_{rel} zur Aktivität zu gelangen wurde die oben genannte Definition, $H_{rel} = 50\%$ entspricht 1 U SOD, angewendet. Daher folgte:

$$SOD = \left(1 - \frac{\Delta E_{Probe}}{\Delta E_{Blind}} \right) \times 2 \quad [U/ml] \quad \text{Gleichung 13}$$

Diese Aktivität bezog sich auf den Gesamtansatz von 0,5 ml. Daher musste der Wert in der Probe bei einem zugesetzten Probenvolumen von 10 μ l um den Faktor 50 korrigiert werden. Zusätzlich wurde die Verdünnung (V = Einwaage Probe in g/ml verdünntem Homogenat) der Probe berücksichtigt. Mit der nun erhaltenen Formel konnte die Aktivität pro Gramm Frischmasse der Gewebeprobe berechnet werden:

$$SOD = \left(1 - \frac{\Delta E_{Probe}}{\Delta E_{Blind}} \right) \times 100 \times V \quad [U/g \text{ Probe}] \quad \text{Gleichung 14}$$

Zusätzlich wurde die Aktivität auch auf den Proteingehalt der Gewebeprobe bezogen. Hierzu erfolgte die Division durch den Proteingehalt (P [g/g]) nach Bradford:

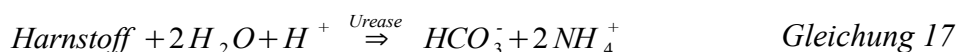
$$SOD = \left(1 - \frac{\Delta E_{Probe}}{\Delta E_{Blind}} \right) \times 100 \times V / P \quad [U/g \text{ Protein}] \quad \text{Gleichung 15}$$

4.4.4.2 Arginaseaktivität

Die Aktivität der Arginase in der Leber wurde nach der Methode von ÖZER (1984) bestimmt. Die Messung wurde jeweils einmal mit manganfreiem und manganhaltigem Puffer durchgeführt. Die Methode beruht auf einer Kopplung der Reaktion an eine Umsetzung von NADPH zu NADP⁺. Im ersten, dem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt, spaltet Arginase Arginin zu Ornithin und Harnstoff (Gleichung 16).



Der Harnstoff wird im zweiten Schritt durch Urease zu zwei Molekülen Ammonium gespalten:



Im letzten Schritt wird das anfallende Ammonium durch Glutamatdehydrogenase (GLDH, EC 1.4.1.2) auf α -Ketoglutarat übertragen. Dabei wird NADPH verbraucht und NADP⁺ freigesetzt.



Das entstehende NADP⁺ kann bei einer Wellenlänge von $\lambda = 340$ nm photometrisch gemessen werden.

Als Probe wurde entsprechend verdünntes Leberhomogenat in TRIS-Puffer (10 mM, pH 7,4) eingesetzt.

Als Puffer wurde eine Lösung von 0,1 M TRIS-HCl, 0,1 M Kaliumchlorid (KCl) und optional 1 mM Manganchlorid (MnCl₂), in *aqua bidest* verwendet, welche mit 1 N Natronlauge (NaOH) auf pH 8 eingestellte wurde.

Das Reaktionsgemisch enthielt 1 mM α -Ketoglutarat, 5 mM L-Arginin und 1 mM Maleinsäure gelöst in oben genanntem Puffer.

Die Urease wurde in einer Mischung zu gleichen Volumenteilen Wasser und Glycerol gelöst. Die Lösung hatte eine Aktivität von 8 kU/ml.

Die NADPH-Lösung enthielt 7,5 mM NADPH gelöst in oben genanntem Puffer.

Die Glutamatdehydrogenase wurde, wie die Urease, ebenfalls in 50%igem Glycerol mit einer Aktivität von 300 U/ml gelöst.

Als Standard kam eine Lösung aus aufgereinigter Arginase im oben genannten Puffer mit einer Aktivität von 90 U/ml zum Einsatz.

Aus dieser Standardlösung wurde eine Standardreihe mit Aktivitäten von 3, 6, 9, 12 und 15 U/ml durch Verdünnen mit Puffer hergestellt.

Zur Messung wurden in einer Halbmikro-Kunststoffküvette jeweils 450 µl Reaktionsgemisch, 10 µl NADPH-Lösung, 10 µl Ureaselösung, 10 µl GLDH-Lösung und 20 µl Probe gemischt. Die kinetische Messung erfolgte bei Raumtemperatur und einer Wellenlänge von $\lambda = 340$ nm nach einer Verzögerung von 75 s über einen Zeitraum von 280 s. Alle Messungen wurden als Dreifachansätze in einem Photometer mit 18fach Küvettenwechsler (Fa. Varian, Cary 50 Bio) ausgeführt.

Von der Standardkurve wurden Steigung (a) und Y-Achsenabschnitt (b) ermittelt und die Aktivität der Arginase in den Proben mit der Verdünnung (V) nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Arginase} = (a \times \Delta E + b) \times V \quad [\text{U/g}] \quad \text{Gleichung 19}$$

Die Messung wurde jeweils in manganhaltigem ($\text{Arg}_{\text{aktiviert}}$) und manganfreiem ($\text{Arg}_{\text{unaktiviert}}$) Puffer durchgeführt. Für beide Analysen wurde auch jeweils eine eigene Standardkurve aufgenommen. Beide Ergebnisse wurden ins Verhältnis gesetzt. Der so gebildete Quotient wird im folgenden als relative Arginaseaktivität (Arg_{rel}) bezeichnet:

$$\text{Arg}_{\text{rel}} = \frac{\text{Arg}_{\text{unaktiviert}}}{\text{Arg}_{\text{aktiviert}}} \quad \text{Gleichung 20}$$

4.4.4.5 Amylaseaktivität

Die Aktivität der α -Amylase im Pankreashomogenat wurde mittels des Testsatzes Amyl-EPS (Firma Analyticon Biotechnologies AG, Lichtenfels) bestimmt.

Die Messung wurde mit Pankreashomogenat in TRIS-Puffer bei einer Verdünnung von 1:2020 durchgeführt, bei 25 °C und einer Wellenlänge von 405 nm. Die kinetische Erfassung begann 30 s nach Mischen der Reagenzien und lief über 5 min. Die Berechnung erfolgte durch Multiplikation der gemessenen Extinktionsänderung mit dem chargenspezifischen Eichfaktor und der Probenverdünnung.

4.4.4.6 Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen

Die Bestimmung der Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBA-RS) nach GÜNTHER et al. (1994) dient als Indikator für Lipidperoxidation. Entsteht ein Lipidperoxid kommt es zur Interaktion des Peroxides mit anderen Verbindungen oder auch zu einer innermolekularen Reaktion. Bei innermolekularen Reaktionen entstehen zyklische Zwischenprodukte die schnell wieder zerfallen. Bei diesem Zerfall entstehen Aldehyde, Dialdehyde und Dicarbonylverbindungen. Einige dieser Abbauprodukte können unter Wasserabspaltung mit zwei Molekülen 2-Thiobarbitursäure kondensieren. Die dabei entstehenden Trimethinverbindungen sind rosa gefärbt und können mittels Photo- oder Fluorometrie erfasst werden.

Die verwendeten Glaswaren wurden vor Arbeitsbeginn mit einer wässrigen Lösung, die 0,22 M ortho-Phosphorsäure und 12 mM Thiobarbitursäure enthielt, für eine Stunde bei 100°C ausgekocht.

Zur Bestimmung wurde das Eiweiß aus den Organhomogenaten ausgefällt. Hierzu wurden 2 ml Homogenat mit 2 ml 0,3 M Trichloressigsäure versetzt, intensiv auf einem Vortexmixer gemischt und dann für 5 min bei 4°C und 13 000 g zentrifugiert.

Von dem Überstand wurden 0,5 ml mit 0,5 ml 70 mM Thiobarbitursäure und 25 µl einer Lösung von 20 mM Natriumlaurylsulfat (SDS) und 20 mM Butylhydroxytoluol (BHT) in Ethanol versetzt, in verschließbaren Glasreagenzgläsern gemischt, für 15 min bei 100°C im Wasserbad inkubiert und anschließend auf Eis schnell abgekühlt.

Der gebildete Farbstoff wurde nun durch intensives Vermischen auf dem Vortexmixer mit 3 ml Butanol extrahiert. Zur besseren Phasentrennung wurde das Gemisch anschließend bei 4°C und 3000 g für 15 min zentrifugiert.

Als Blindwert diente ein Ansatz der anstatt Probe *aqua bidest.* enthielt.

Als Standard wurde eine 8,815 mM 1,1,3,3 Tetraethoxypropan-Lösung (TEP) in 40% Ethanol verwendet. Aus dieser Stammlösung wurde eine Verdünnungsreihe mit den Konzentrationen 33 nM bis 2,65 mM hergestellt.

Die Produkte der Reaktion wurden nun im Fluorometer (Perkin Elmer LS50B mit FL-Winlab) gemessen. Die Anregung erfolgte bei 532 nm, die Emissionsmessung bei 553 nm, bei 5 nm Schlitzweite in beiden Strahlengängen und einer Integrationszeit von 1 s.

Aus den Ergebnissen der Standardkurve wurden wiederum Steigung (a) und Y-Achsenabschnitt (b) ermittelt. Die Konzentration der TBA-RS wurde nun nach folgender Formel berechnet:

$$C_{TBA-RS} = (a \times E + b) \times V \quad [\mu\text{mol/g}] \quad \text{Gleichung 21}$$

4.5 Berechnung der Manganverdaulichkeit

Die scheinbare Manganverdaulichkeit, die Differenz zwischen aufgenommenem und faecal ausgeschiedenem Mangan, erforderte zunächst die Berechnung der Manganaufnahme aus Futteraufnahme und Mangangehalt der Ferkelfutterchargen. Weiterhin wurde die Manganausscheidung berechnet, indem der Mangangehalt des Kotes (bezogen auf die FM) mit der ausgeschiedenen Kotmenge multipliziert wurde. Das scheinbar verdaute (= scheinbar absorbierte) Mangan wurde als Differenz von Aufnahme und Ausscheidung definiert.

$$\text{Verdaut}_{\text{scheinbar}} = \text{Aufnahme} - \text{Ausscheidung}_{\text{faecal}} \quad \text{Gleichung 22}$$

Im Parameter scheinbare Absorbierbarkeit wurde die faecal nicht wieder ausgeschiedene Manganamenge mit der aufgenommenen Manganamenge ins Verhältnis gesetzt

$$\text{Verdaulichkeit}_{\text{scheinbar}} = \frac{\text{Verdaut}_{\text{scheinbar}}}{\text{Aufnahme}} \quad \text{Gleichung 23}$$

4.6 Statistische Auswertung

Die Erfassung der Daten, die Berechnung der beschreibenden Statistik sowie deren graphische Darstellung erfolgte mit Microsoft Excel 2000. Die im Text und in den Tabellen angegebenen Ergebnisse stellen Gruppenmittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) der Messwerte der einzelnen Tiere einer Gruppe dar. Die weitere statistische Analyse der Daten erfolgte mit SPSS für Windows in der Version 11.5.

Die Normalverteilung der Residuen wurde mittels Kolmogorov-Smirnov-Test ($\geq 0,05$) und dem Shapiro-Wilks-Test ($\geq 0,05$) geprüft. Danach erfolgte eine univariate Varianzanalyse. Das Vorliegen der Varianzhomogenität wurde mittels dem Levene-Test ($\geq 0,05$) überprüft. Bei vorliegender Varianzhomogenität wurden signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen mittels des Tukey-HSD-Testes ermittelt, bei nicht vorliegender Varianzhomogenität mittels des Games-Howell-Testes.

Bei fehlender Normalverteilung wurden die Werte vor der Analyse transformiert (die beste Transformation wurde durch Auswahl aus den Verfahren Logarithmieren, Quadrieren, Ziehen der Quadratwurzel oder reziproke Darstellung ermittelt).

Signifikante Mittelwertunterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Versuchsgruppen sind in den Ergebnistabellen mit unterschiedlichen, hochgestellten Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten einer Versuchsgruppe zu verschiedenen Zeitpunkten sind durch hochgestellte Großbuchstaben gekennzeichnet.

Konnte ein gerichteter Zusammenhang zwischen Behandlung (Manganzulage) und Erfolgsparameter (abhängige Variable) nachgewiesen werden, wurden die Daten regressionsanalytisch untersucht. Die Regressionsanalyse erfolgte je nach Datenlage mit einer logarithmischen (Gleichung 24), exponentiellen (Gleichung 25), linearen (Gleichung 26) oder polynomischen (Gleichung 27) Kurve. Der Grad der Beziehung beider Datenpaare wurde durch das Bestimmtheitsmaß ($r^2 = \text{Quadrat des Korrelationskoeffizienten nach Pearson}$) beschrieben.

$$y(x) = a \ln(x) + b \quad \text{Gleichung 24}$$

$$y(x) = b x^a \quad \text{Gleichung 25}$$

$$y(x) = a x + b \quad \text{Gleichung 26}$$

$$y(x) = a x^2 + b x + c \quad \text{Gleichung 27}$$

5 Ergebnisse

5.1 Versuchsdiät

5.1.1 Inhaltsstoffe und Energie

Die Ergebnisse der Weender Analyse zuzüglich der Zucker- und Stärkebestimmung sind in Tabelle 14 aufgeführt. Der analytisch gefundene Proteingehalt im Starterfutter stimmte mit dem berechneten Wert überein. Im Ferkelfutter war er etwas niedriger als in der Berechnung. Die aus den Analysendaten geschätzte umsetzbare Energie (ME) lag hingegen 4% im Fall des Starterfutters und 8% bei dem Ferkelfutter unter den berechneten Werten.

Tabelle 14: Analyseergebnisse der Rohnährstoffe in den Versuchsdiäten und die daraus geschätzte Umsetzbare Energie

<i>Probe</i>		<i>TM</i>	<i>XA</i>	<i>XP</i>	<i>XL</i>	<i>XS</i>	<i>XZ</i>	<i>XF¹</i>	<i>ME</i>
		<i>g/kg</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>MJ/kg FM</i>
Starterfutter	M ²	938,2	57,7	190,8	40,9	240,0	215,5	60,0	14,4
	SD ³	2,5	0,2	1,4	2,0	6,3	5,4	0,0	0,1
Ferkelfutter	M	928,7	52,4	148,0	41,2	289,8	178,7	65,0	13,8
	SD	2,3	0,7	5,4	1,0	8,8	3,9	0,0	0,1

¹ Die Rohfaser wurde nicht analytisch bestimmt, sondern die eingemischte Zellulose gleich Rohfaser gesetzt

² Gruppenmittelwert

³ Standardabweichung

5.1.2 Mangangehalte in den Versuchsdiäten

Die in Tabelle 15 angegebenen Mangangehalte der Versuchsdiäten stellen das gewichtete Mittel aus jeweils einer Charge Starter- sowie dreier Chargen Ferkelfutter dar. Gewichtet heißt, dass bei der Bildung des Mittelwertes berücksichtigt wurde, dass die Charge des Starterfutters kleiner war, als die des Ferkelfutters. Die Wiederfindung lag der in allen Zulage-Diäten leicht unter den Zielwerten.

Tabelle 15: *Analysierte Mangangehalte in Diäten*

<i>Gruppe</i>	<i>gewichtetes Mittel¹</i>
<i>mg Mn/kg FM</i>	
Mn-00	0,24
Mn-02	1,81
Mn-04	3,98
Mn-08	7,72
Mn-16	14,69
Mn-32	29,22

¹ Gewichtetes Mittel: Summe der Produkte aus Gewicht und Mangangehalt der einzelnen Chargen dividiert durch das Gesamtgewicht aller Chargen pro Manganstufe

5.2 Zootechnische Parameter

5.2.1 Lebendmasse

Die durchschnittliche Lebendmasse der Tiere der einzelnen Versuchsgruppen ist in Tabelle 16 dargestellt. Es traten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen auf. Auch ein unterschiedliches Auseinanderwachsen der Tiere innerhalb der Gruppen konnte nicht beobachtet werden. Während des Versuches traten keine Verluste von Tieren auf.

Tabelle 16: *Körpergewichtsentwicklung der Ferkel während der Eingewöhnungsphase und während des Versuches*

<i>Gruppe</i>			<i>Gewicht/kg</i>						
<i>Versuchstag</i>	<i>Eingew.²</i>		<i>1</i>	<i>8</i>	<i>15</i>	<i>22</i>	<i>29</i>	<i>36</i>	<i>48</i>
Mn-00	M	6,33	7,13	7,45	9,60	13,26	17,54	22,63	26,79
	SD	0,69	0,74	0,77	1,10	1,44	1,65	1,83	1,52
Mn-02	M	6,65	7,19	7,81	9,73	13,17	17,20	22,16	26,83
	SD	0,72	0,75	0,95	1,26	1,54	1,84	2,02	2,22
Mn-04	M	6,84	7,29	7,91	10,03	13,62	17,92	23,15	27,82
	SD	0,51	0,97	0,84	1,14	1,32	1,57	1,78	1,82
Mn-08	M	6,56	7,33	7,71	9,48	12,91	16,96	21,88	26,56
	SD	0,71	0,95	1,10	1,35	1,71	1,67	1,88	2,32
Mn-16	M	6,85	7,25	7,88	10,15	13,87	17,87	22,69	27,22
	SD	0,99	0,89	1,09	1,02	0,77	0,46	0,72	1,26
Mn-32	M	6,34	7,23	7,56	9,78	13,57	17,64	22,45	27,58
	SD	0,55	0,54	0,60	0,88	1,24	1,13	1,29	1,04
Gesamt	M	6,59	7,24	7,72	9,79	13,40	17,52	22,49	27,13
	SD	0,69	0,76	0,86	1,08	1,31	1,40	1,58	1,69

² Tag 1 der Eingewöhnungsphase

5.2.2 Futterraufnahme

Die täglichen Futterraufnahmen sind in Tabelle 17 aufgelistet. In der ersten Versuchswoche wurde in allen Gruppen auffallend wenig Futter aufgenommen. Außer in der sechsten Versuchswoche traten keine signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf. In der sechsten Woche nahmen die Tiere aus Gruppe Mn-00 signifikant weniger Futter auf als jene aus Gruppe Mn-36.

In der sechsten Versuchswoche traten deutliche Abweichungen zwischen den Futterraufnahmen der einzelnen Tiere auf, was an den angestiegenen Standardabweichungen in Tabelle 17 erkennbar wird.

Tabelle 17: *Tägliche Futterraufnahme der Ferkel während des Versuches*

Gruppe		Futterraufnahme g/d						Gesamt
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6	
Mn-00	M	0,137	0,346	0,678	0,866	0,977	0,962 ^a	0,661
	SD	0,016	0,069	0,039	0,066	0,052	0,053	0,034
Mn-02	M	0,169	0,348	0,641	0,868	1,030	1,090 ^{a, b}	0,691
	SD	0,019	0,050	0,058	0,072	0,043	0,123	0,035
Mn-04	M	0,167	0,381	0,664	0,881	1,040	1,081 ^{a, b}	0,702
	SD	0,035	0,051	0,051	0,061	0,042	0,098	0,037
Mn-08	M	0,138	0,316	0,612	0,863	1,008	1,010 ^{a, b}	0,658
	SD	0,023	0,066	0,097	0,067	0,095	0,182	0,066
Mn-16	M	0,153	0,392	0,703	0,860	1,026	1,045 ^{a, b}	0,697
	SD	0,026	0,025	0,038	0,076	0,067	0,182	0,039
Mn-32	M	0,148	0,380	0,694	0,856	0,988	1,124 ^b	0,698
	SD	0,028	0,048	0,063	0,039	0,107	0,091	0,042
Gesamt	M	0,152	0,361	0,665	0,866	1,012	1,052	0,684
	SD	0,027	0,056	0,065	0,060	0,071	0,132	0,044

5.2.3 Tägliche Zunahme

Die Tabelle 18 zeigt die täglichen Zunahmen. Schon während der Eingewöhnungsphase steigerte sich das Körpergewicht der Tiere. Der Lebendmassezuwachs war jedoch in der ersten Versuchswoche gering und erst ab der zweiten Versuchswoche kam es zu einer gleichmäßigen Lebendmassezunahme. Zu keinem Zeitpunkt traten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf.

Die Zunahmen erreichten in der fünften Versuchswoche einen Maximum von durchschnittlich 710 g/d. Da keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auftraten, wurde die Statistik zum Vergleich der einzelnen Wägetermine lediglich mit dem Mittel aller Tiere ausgeführt.

Tabelle 18: Tägliche Gewichtszunahme der Ferkel während der Eingewöhnungsphase und während des Versuches

Gruppe	Tägliche Zunahme g/d							
	Eingew.	Woche1	Woche2	Woche3	Woche4	Woche5	Woche 6	
Mn-00	M	160	46	308	522	613	727	595
	SD	27	33	83	55	40	28	58
Mn-02	M	107	88	275	492	576	709	668
	SD	56	38	55	44	77	48	82
Mn-04	M	92	89	302	514	614	747	667
	SD	118	43	51	42	51	58	93
Mn-08	M	155	54	252	491	578	703	669
	SD	53	30	48	70	36	84	126
Mn-16	M	80	91	324	531	572	688	648
	SD	67	43	20	58	70	64	108
Mn-32	M	177	48	317	543	581	687	734
	SD	55	18	50	69	44	78	110
Gesamt	M	128 ^A	69 ^B	296 ^C	515 ^D	589 ^E	710 ^F	663 ^F
	SD	74	38	56	57	54	62	100

5.2.4 Futtermittelverwertung

In Tabelle 19 ist die Futtermittelverwertung in den einzelnen Versuchswochen sowie über den gesamten Versuchszeitraum dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen traten zu keinem Zeitpunkt auf.

In der ersten Woche war die Futtermittelverwertung deutlich schlechter und sehr stark gestreut, ganz im Gegensatz zu den übrigen Versuchswochen. Das Tier in Käfig Nummer 2 (Gruppe Mn-00) nahm trotz Futteraufnahme leicht ab, wodurch ein stark negativer Wert bei der Futtermittelverwertung resultierte. Dieser Wert wurde daher für Woche 1 als Ausreißer gewertet und von der statistischen Auswertung ausgeschlossen.

Die Futtermittelverwertung im restlichen Versuchszeitraum erreichte Werte zwischen 1,17 und 1,64 kg Futter pro kg Zunahme. Von der zweiten Woche bis zur sechsten Woche stieg der Futteraufwand für das Wachstum erwartungsgemäß leicht an.

Tabelle 19: Futtermittelverwertung der Ferkel während des Versuches

<i>Gruppe</i>		<i>Woche 1</i>	<i>Woche 2</i>	<i>Woche 3</i>	<i>Woche 4</i>	<i>Woche 5</i>	<i>Woche 6</i>	<i>Gesamt</i>
		<i>kg Futteraufnahme pro kg Zuwachs</i>						
Mn-00	M	3,69 ¹	1,17	1,31	1,41	1,35	1,63	1,41
	SD	3,35	0,24	0,09	0,06	0,04	0,13	0,02
Mn-02	M	2,16	1,28	1,30	1,52	1,46	1,64	1,48
	SD	0,78	0,10	0,05	0,13	0,10	0,13	0,07
Mn-04	M	2,16	1,28	1,30	1,52	1,46	1,64	1,48
	SD	0,78	0,10	0,05	0,13	0,10	0,13	0,07
Mn-08	M	3,32	1,25	1,25	1,49	1,44	1,52	1,44
	SD	1,94	0,13	0,07	0,09	0,09	0,13	0,05
Mn-16	M	2,22	1,21	1,34	1,52	1,49	1,62	1,47
	SD	1,51	0,10	0,11	0,15	0,06	0,13	0,05
Mn-32	M	3,58	1,21	1,29	1,48	1,44	1,56	1,44
	SD	1,67	0,09	0,07	0,14	0,06	0,22	0,05
Gesamt	M	2,87 ¹	1,23	1,30	1,48	1,43	1,60	1,45
	SD	1,88	0,13	0,08	0,11	0,10	0,15	0,05

¹ Tier aus Käfig Nr. 2 nicht berücksichtigt

5.3 Befunderhebung am Schlachtkörper

5.3.1 Pathologische Veränderungen

Bei der Schlachtung wurden bei drei Tieren (Gruppe Mn-04, Mn-16 und Mn-32 je ein Tier) Zysten in den Nieren gefunden (Anhangstabelle 15). Ein Tier (Gruppe Mn-04) wies einen Samenstrangabszess im Skrotalbereich auf. In zwei Fällen (Gruppe Mn-02 und Mn-32) lag eine Verklebung von Lungenteilen mit dem Brustfell vor. Bei einem Tier (Gruppe Mn-04) wurde ein kleiner atrophischer Hoden gefunden. Ein weiteres Tier (Gruppe Mn-08) besaß eine Leber mit einigen leicht aufgehellten Arealen.

5.3.2 Organgewichte

Die Gewichte von Herz, Leber und linker Nieren (Tabelle 20) wurden nicht durch die Manganzufuhr beeinflusst. Hierbei war unerheblich, ob die Auswertung auf Basis der absoluten Gewichte oder bezogen auf das individuelle Körpergewicht erfolgte.

Tabelle 20: Organgewichte von Herz, Leber und Niere der Ferkel

Gruppe		Herz		Leber		Niere	
		g FM	Gew./KGW	g FM	Gew./KGW	g FM	Gew./KGW
Mn-00	M	116	0,45%	550	2,14%	137	0,54%
	SD	6	0,03%	58	0,23%	14	0,06%
Mn-02	M	122	0,47%	557	2,17%	119	0,46%
	SD	15	0,06%	92	0,36%	17	0,07%
Mn-04	M	117	0,46%	572	2,22%	135	0,53%
	SD	15	0,06%	46	0,18%	21	0,08%
Mn-08	M	123	0,48%	538	2,09%	123	0,48%
	SD	15	0,06%	57	0,22%	16	0,06%
Mn-16	M	119	0,47%	519	2,02%	130	0,51%
	SD	9	0,04%	71	0,28%	14	0,06%
Mn-32	M	122	0,48%	557	2,17%	139	0,54%
	SD	12	0,05%	59	0,23%	21	0,08%

5.3.3 Maße und Gewichte von Radius und Ulna

Die Maße und Gewichte von Radius und Ulna waren nicht von der oralen Manganzufuhr beeinflusst (Tabelle 21). Auch die Bildung von Quotienten aus Länge und Gewicht beziehungsweise Gelenkflächendurchmesser und Länge ließ keine durch die Manganzufuhr verursachten Effekte erkennen.

Tabelle 21: Maße und Gewichte der präparierten rechten Unterarmknochen (Radius und Ulna) der Ferkel

Gruppe		Gewicht	Länge	Gelenkflächendurchmesser	
				proximal	distal
		g	mm	mm	mm
Mn-00	M	82,2	77,4	30,5	37,3
	SD	6,0	2,5	1,1	1,4
Mn-02	M	82,0	79,1	30,3	37,5
	SD	9,3	3,6	1,8	1,4
Mn-04	M	86,5	79,9	30,5	38,3
	SD	6,8	3,1	0,9	1,6
Mn-08	M	79,3	78,8	30,1	38,0
	SD	9,4	3,2	1,8	1,4
Mn-16	M	82,6	79,7	30,3	37,3
	SD	7,3	3,1	2,0	1,8
Mn-32	M	83,9	80,5	30,3	38,3
	SD	5,4	2,2	0,5	1,5

5.4 Ergebnisse der Blutuntersuchung

5.4.1 Rotes Blutbild

Die Ergebnisse der Untersuchung des Roten Blutbildes, Erythrozytenzahl (RBC, Tabelle 22), Hämoglobinkonzentration (HGB, Tabelle 23), Hämatokrit (PCV, Tabelle 24) sowie Retikulozytenanteil (RETIC, Tabelle 28), in den Blutproben der Ferkel, wiesen zu keinem der vier Probenstermine signifikante Gruppenunterschiede auf.

Die aus diesen Werten errechneten Erythrozytenindizes MCV (Tabelle 25), MCH (Tabelle 26), MCHC (Tabelle 27) wiesen, mit Ausnahme der MCHC am letzten Entnahmeterrn, keine signifikanten Gruppenunterschiede auf. Bei der MCHC war am letzten Entnahmeterrn der Wert in der Gruppe Mn-00 mit 19,18 mmol/l gegenüber der Gruppe Mn-16 mit 18,10 mmol/l signifikant erhöht. Gegenüber Gruppe Mn-08 konnte auch noch eine tendenzielle Erhöhung festgestellt werden.

Alle Parameter waren signifikant durch das Alter der Tiere beeinflusst. Die Erythrozytenzahl stieg von der ersten bis zur zweiten und von der dritten bis zur vierten Entnahme signifikant an. Das PCV lag bei den ersten 3 Blutproben auf einheitlichem Niveau und stieg jedoch in den letzten beiden Versuchswochen signifikant an. Die Hämoglobinkonzentration nahm zunächst vom ersten bis zum dritten Entnahmeterrn kontinuierlich ab, stieg in den letzten beiden Versuchswochen wieder signifikant an. Das MCV nahm zunächst in den ersten zwei Versuchswochen signifikant ab, stieg in den folgenden Wochen wieder leicht an, erreichte aber nicht mehr den Ausgangswert. Das MCH ging ebenfalls in den ersten beiden Wochen signifikant zurück, verblieb hingegen auf dem niedrigen Niveau. Bei der MCHC wurden in der letzten Versuchshälfte signifikant geringere Werte gefunden als in der ersten Hälfte. Die Retikulozyten schwankten deutlich im Versuchsverlauf. Einer Abnahme zwischen den ersten beiden Beprobungen folgte wieder eine Zunahme auf das Ausgangsniveau und ein erneuter Abfall der Werte.

Tabelle 22: Erythrozytenzahlen (RBC) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten

Gruppe		RBC (T/l)			
Versuchstag:		0¹	14	28	42
Mn-00	M	6,37	6,66	6,45	6,85
	SD	0,07	0,40	0,50	0,69
Mn-02	M	6,30	6,71	6,65	7,12
	SD	0,39	0,80	0,70	0,87
Mn-04	M	6,28	6,71	6,55	7,12
	SD	0,45	0,66	0,29	0,79
Mn-08	M	6,29	6,53	6,56	6,92
	SD	0,20	0,27	0,22	0,30
Mn-16	M	6,04	6,28	6,54	6,95
	SD	0,16	0,27	0,48	0,41
Mn-32	M	6,06	6,50	6,43	6,99
	SD	0,31	0,37	0,26	0,62
Gesamt	M	6,23 ^A	6,56 ^B	6,53 ^B	6,99 ^C
	SD	0,30	0,49	0,42	0,60

¹ Die erste Blutprobe wurde aus organisatorischen Gründen schon in der Engewöhnungsphase entnommen (drei Tage vor Versuchsbeginn). Der Probenzeitpunkt wird im folgenden mit „Tag 0“ gekennzeichnet

Tabelle 23: Hämoglobingehalt (HGB) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten

Gruppe		HGB (mmol/l)			
Versuchstag:		0	14	28	42
Mn-00	M	8,17	7,73	7,35	8,07
	SD	0,34	0,52	0,42	0,60
Mn-02	M	7,60	7,37	7,28	7,95
	SD	0,40	0,89	0,78	0,68
Mn-04	M	7,90	7,88	7,63	8,38
	SD	0,44	0,55	0,28	0,59
Mn-08	M	7,93	7,47	7,42	7,95
	SD	0,41	0,64	0,40	0,40
Mn-16	M	7,63	7,37	7,40	8,00
	SD	0,29	0,43	0,56	0,42
Mn-32	M	7,76	7,68	7,27	8,10
	SD	0,15	0,54	0,39	0,75
Gesamt	M	7,83 ^{A,B}	7,58 ^{B,C}	7,39 ^C	8,08 ^A
	SD	0,39	0,6	0,48	0,56

Tabelle 24: *Hämatokrit (PCV) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten*

Gruppe		PCV (l/l)			
Versuchstag:		0	14	28	42
Mn-00	M	0,43	0,40	0,40	0,42
	SD	0,02	0,03	0,04	0,04
Mn-02	M	0,40	0,39	0,40	0,43
	SD	0,02	0,04	0,04	0,05
Mn-04	M	0,41	0,41	0,41	0,46
	SD	0,02	0,03	0,02	0,05
Mn-08	M	0,41	0,39	0,40	0,44
	SD	0,03	0,04	0,03	0,03
Mn-16	M	0,40	0,38	0,40	0,44
	SD	0,01	0,03	0,03	0,03
Mn-32	M	0,40	0,39	0,39	0,44
	SD	0,01	0,03	0,02	0,04
Gesamt	M	0,41 ^A	0,39 ^A	0,40 ^A	0,44 ^B
	SD	0,02	0,03	0,03	0,04

Tabelle 25: *Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten*

Gruppe		MCV (fl)			
Versuchstag:		0	14	28	42
Mn-00	M	66,43	59,72	61,38	61,57
	SD	2,73	1,51	2,65	2,43
Mn-02	M	63,15	57,47	59,30	60,22
	SD	3,29	3,79	4,16	2,98
Mn-04	M	65,95	61,30	62,95	64,18
	SD	3,83	3,95	4,46	3,71
Mn-08	M	65,92	58,57	61,20	62,73
	SD	3,19	3,94	4,00	3,56
Mn-16	M	66,05	60,23	61,10	63,38
	SD	1,93	1,47	2,39	2,25
Mn-32	M	66,88	60,07	60,95	63,03
	SD	4,20	3,23	3,09	2,13
Gesamt	M	65,70 ^A	59,56 ^B	61,15 ^{B,C}	62,52 ^C
	SD	3,23	3,19	3,45	3,00

Tabelle 26: Mittlerer zellulärer Hämoglobingehalt (MCH) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten

Gruppe		MCH (fmol)			
Versuchstag:		0	14	28	42
Mn-00	M	1,28	1,16	1,14	1,18
	SD	0,05	0,04	0,05	0,06
Mn-02	M	1,21	1,10	1,10	1,12
	SD	0,09	0,08	0,09	0,08
Mn-04	M	1,26	1,18	1,17	1,18
	SD	0,07	0,06	0,07	0,07
Mn-08	M	1,26	1,14	1,13	1,15
	SD	0,06	0,06	0,07	0,05
Mn-16	M	1,27	1,17	1,14	1,15
	SD	0,04	0,04	0,06	0,05
Mn-32	M	1,28	1,18	1,13	1,15
	SD	0,07	0,07	0,05	0,05
Gesamt	M	1,26 ^A	1,16 ^B	1,14 ^B	1,16 ^B
	SD	0,07	0,06	0,06	0,06

Tabelle 27: Mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten

Gruppe		MCHC (mmol/l)			
Versuchstag:		0	14	28	42
Mn-00	M	19,25	19,37	18,62	19,18 ^a
	SD	0,38	0,35	0,72	0,61
Mn-02	M	19,09	19,17	18,51	18,59 ^{a, b}
	SD	0,56	0,41	0,37	0,63
Mn-04	M	19,12	19,17	18,50	18,42 ^{a, b}
	SD	0,34	0,31	0,37	0,78
Mn-08	M	19,12	19,50	18,48	18,29 ^{a, b}
	SD	0,62	0,52	0,36	0,49
Mn-16	M	19,18	19,44	18,59	18,15 ^b
	SD	0,55	0,45	0,48	0,45
Mn-32	M	19,11	19,65	18,52	18,30 ^{a, b}
	SD	0,23	0,36	0,45	0,20
Gesamt	M	19,15 ^A	19,38 ^A	18,53 ^B	18,49 ^B
	SD	0,44	0,42	0,44	0,62

Tabelle 28: *Retikulozytenzahl in Blutproben der Ferkel zu verschiedenen Zeitpunkten*

<i>Gruppe</i>		<i>RETIC (%)</i>			
<i>Versuchstag:</i>		<i>0</i>	<i>14</i>	<i>28</i>	<i>42</i>
Mn-00	M	5,55	3,30	5,45	3,62
	SD	0,41	0,87	0,96	0,50
Mn-02	M	4,62	3,23	5,65	3,42
	SD	0,69	1,53	0,68	0,65
Mn-04	M	4,98	3,38	5,22	3,83
	SD	1,40	0,82	0,65	0,53
Mn-08	M	5,23	2,62	5,95	4,12
	SD	1,07	1,45	0,92	0,91
Mn-16	M	5,17	3,32	4,87	4,22
	SD	1,55	0,78	0,64	0,56
Mn-32	M	6,10	3,47	5,62	4,58
	SD	0,19	1,20	0,99	0,77
Gesamt	M	5,25 ^A	3,22 ^B	5,46 ^A	3,96 ^C
	SD	1,06	1,10	0,84	0,73

5.4.2 Enzymaktivitäten im Plasma

Weder die Aktivität der α -Amylase noch der alkalischen Phosphatase im Plasma wurde durch die Manganversorgung beeinflusst (Tabelle 29).

Tabelle 29: *Aktivitäten der Amylase und der alkalischen Phosphatase im Plasma der Ferkel am Versuchsende*

<i>Gruppe</i>		<i>Amylase</i>	<i>Alkalische Phosphatase</i>
		<i>UI</i>	<i>UI</i>
Mn-00	M	2752	710
	SD	1025	100
Mn-02	M	2019	615
	SD	752	199
Mn-04	M	3044	691
	SD	1528	192
Mn-08	M	2011	629
	SD	570	100
Mn-16	M	2340	590
	SD	435	127
Mn-32	M	3081	729
	SD	693	200

5.5 Knorpelzusammensetzung

5.5.1 Dimethylenblaureaktive Substanz

Die auf den Proteingehalt bezogene dimethylenblaureaktive Substanz (DMB) war in Gruppe Mn-00 signifikant gegenüber den Gruppen Mn-16 und Mn-32 erniedrigt (Tabelle 30). Die übrigen Gruppen lagen statistisch nicht weiter differenzierbar zwischen diesen Gehalten. Wurden die Gehalte auf die Frischmasse bezogen, war die Situation leicht verändert. Hier war der Gehalt in Gruppe Mn-02 signifikant geringer als in Gruppe Mn-16 und Mn-32. Gruppe Mn-00 war lediglich tendenziell gegenüber der Gruppe Mn-16 reduziert.

5.5.2 Uronsäure

Bei der Uronsäure (URA) waren die Verhältnisse ähnlich (Tabelle 30). Bezogen auf den Proteingehalt lag allerdings die Gruppe Mn-02 am niedrigsten, die Gruppen Mn-16 und Mn-32 wiesen wiederum die höchsten Werte auf und unterschieden sich nicht untereinander. Die Gruppen Mn-00 und Mn-02 waren gegenüber Mn-16 und Mn-32 erniedrigt. Gruppe Mn-02 wies auch signifikant gerin-

gere Werte als Gruppe Mn-08 auf. Bezogen auf die Frischmasse waren die Gruppen Mn-02 und Mn-04 signifikant gegenüber Mn-08 bis Mn-32 erniedrigt. Mn-00 wies lediglich gegenüber Mn-16 reduzierte Werte auf.

Tabelle 30: *Zusammensetzung des Gelenkknorpels aus den Metakarpalgelenken der Ferkel*

Gruppe		DMB ¹		URA ²	
		g/kg FM	g/g Protein	g/kg FM	mg/g Protein
Mn-00	M	74,69 ^{a, b}	1,77 ^a	2,19 ^{a, b}	52,90 ^{a, b}
	SD	16,74	0,21	0,27	5,30
Mn-02	M	61,68 ^a	1,69 ^{a, b}	1,82 ^a	50,43 ^a
	SD	15,10	0,36	0,26	8,56
Mn-04	M	64,14 ^a	1,89 ^{a, b}	1,91 ^a	56,84 ^{a, b, c}
	SD	15,43	0,22	0,29	2,88
Mn-08	M	83,31 ^{a, b}	2,01 ^{a, b}	2,54 ^{b, c}	61,28 ^{b, c}
	SD	9,31	0,31	0,10	6,85
Mn-16	M	97,47 ^b	2,17 ^b	2,88 ^c	64,18 ^c
	SD	10,64	0,17	0,31	3,45
Mn-32	M	92,36 ^b	2,24 ^b	2,60 ^{b, c}	63,26 ^c
	SD	12,68	0,17	0,31	5,68

¹ Dimethylenblaureaktive Substanz

² Uronsäure

5.6 Mangananalysen

5.6.1 Mangangehalte in Geweben

Die variierende Manganversorgung spiegelte sich in deutlich veränderten Mangankonzentrationen in allen untersuchten Geweben wieder (Tabelle 31).

Tabelle 31: *Mangangehalte in diversen Organ- bzw. Gewebeproben der Ferkel nach Nassveraschung und Messung mittels GFAAS*

<i>Gruppe</i>		<i>Mangangehalt (mg/kg FM)</i>						
		<i>Leber</i>	<i>Niere</i>	<i>Lunge</i>	<i>Herz</i>	<i>Muskel</i>	<i>Phalanx</i>	<i>Pankreas</i>
Mn-00	M	0,279 ^a	0,259 ^a	0,066 ^a	0,060 ^a	0,020 ^a	0,023 ^a	0,414 ^a
	SD	0,069	0,022	0,013	0,015	0,006	0,003	0,049
Mn-02	M	0,769 ^b	0,463 ^b	0,101 ^b	0,070 ^b	0,030 ^b	0,038 ^{a, b}	0,653 ^b
	SD	0,059	0,037	0,013	0,015	0,008	0,010	0,075
Mn-04	M	1,074 ^c	0,748 ^b	0,146 ^c	0,130 ^b	0,034 ^b	0,052 ^{b, c 1}	1,019 ^c
	SD	0,158	0,097	0,025	0,015	0,004	0,007	0,108
Mn-08	M	1,591 ^d	0,997 ^c	0,164 ^c	0,164 ^b	0,054 ^c	0,075 ^c	1,281 ^{c, d}
	SD	0,195	0,166	0,043	0,038	0,009	0,016	0,315
Mn-16	M	1,938 ^d	1,062 ^c	0,191 ^{c, d}	0,238 ^c	0,062 ^c	0,121 ^d	1,309 ^d
	SD	0,260	0,069	0,048	0,020	0,010	0,015	0,148
Mn-32	M	2,028 ^d	1,137 ^c	0,230 ^d	0,293 ^c	0,071 ^c	0,149 ^d	1,456 ^d
	SD	0,378	0,083	0,014	0,047	0,019	0,021	0,328

¹ Tier Nummer 13 als Ausreißer bewertet und von der Auswertung ausgeschlossen

Tabelle 32: *Regressionsanalytischer Zusammenhang zwischen aufgenommenem Mangan und erreichter Mangankonzentration in Organen*

<i>Gewebe</i>	<i>Regressionsgleichung</i>	<i>Bestimmtheitsmaß</i>	<i>Irrtumswahrscheinlichkeit</i>
Leber	$y=0,5517 x^{0,431}$	$r^2=0,9265$	$p < 0,005$
Niere	$y=0,4222 x^{0,3262}$	$r^2=0,9196$	$p < 0,005$
Lunge	$y=0,0917 x^{0,2623}$	$r^2=0,8228$	$p < 0,005$
Herz	$y=-0,0003 x^2+0,0159 x+0,0544$	$r^2=0,9051$	$p < 0,005$
Muskel	$y=0,0265 x^{0,2765}$	$r^2=0,7862$	$p < 0,005$
Phalanx	$y=-0,0001 x^2+0,0083 x+0,0207$	$r^2=0,9300$	$p < 0,005$
Pankreas	$y=0,6155 x^{0,2732}$	$r^2=0,8559$	$p < 0,01^2$

² Bei diesem Parameter wurden die Kriterien für Normalverteilung knapp verfehlt. Diese ist jedoch Voraussetzung für die Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson. Die von SPSS errechnete Irrtumswahrscheinlichkeit wurde mit $p < 0,0001$ beziffert. Daher wurde die Robustheit des Korrelationskoeffizienten nach Pearson angenommen und die abgedruckte Irrtumswahrscheinlichkeit um den Sicherheitsfaktor 100 korrigiert.

Im Lebergewebe wurde ein maximaler Mangangehalt von 2,03 mg/kg FM in der Gruppe Mn-32 erreicht. Die Werte gingen in der Gruppe Mn-00 auf 0,279 mg/kg FM zurück. Von Gruppe Mn-00 bis Mn-08 unterschieden sich dabei alle einzelnen Stufen signifikant. Die Mittelwerte der Gruppen

Mn-08, Mn-16 und Mn-32 lagen hingegen auf gleichem Niveau. Die Regressionsanalyse ergibt einen logarithmischen Zusammenhang zwischen dem Mangangehalt in der Diät und der erreichten Mangankonzentration in der Leber (Tabelle 32).

Ähnlich stellt sich die Situation in der Niere dar. Während der Wert in Gruppe Mn-00 auf ähnlichem Niveau lag wie in der Leber, betrug hier der maximale Gehalt lediglich 1,14 mg/kg FM (Gruppe Mn-32). Signifikante Unterschiede traten zwischen Gruppe Mn-00 und Mn-02 sowie Mn-04 und den restlichen drei Gruppen auf. Regressionsanalytisch wurde hier ein potentieller Zusammenhang nachgewiesen (Tabelle 32).

In der Lunge bewegten sich die Gehalte zwischen 0,066 mg/kg FM (Gruppe Mn-00) und 0,230 mg/kg FM (Gruppe Mn-32). Signifikant waren die Veränderungen jeweils von Mn-00 zu Mn-02 und wiederum zu Mn-04. In Gruppe Mn-32 stieg der Wert noch einmal signifikant gegenüber Mn-04 und Mn-08 an, während sich Mn-16 von keiner dieser Gruppen unterschied. Die ermittelte Gleichung der Regressionskurve ist von potentielltem Typ (Tabelle 32).

Die Werte im Herzen lagen ähnlich jenen der Lunge zwischen 0,060 (Gruppe Mn-00) und 0,293 mg/kg FM (Gruppe Mn-32). Signifikante Unterschiede traten jeweils von Gruppe Mn-02 zu Mn-04 und Mn-08 zu Mn-16 auf. Der Zusammenhang zwischen oralem Manganangebot und erreichtem Organspiegel wird am besten durch eine Regressionskurve polynomischen Typs 2. Ordnung beschrieben (Tabelle 32)

Im Muskel unterschritten die Mangangehalte in den Gruppen Mn-00 bis Mn-04 die sichere Bestimmungsgrenze der GFAAS. Signifikante Unterschiede traten zwischen den Gruppen Mn-00 und Mn-02 sowie Mn-04 und Mn-08 auf. Mn-02 zu Mn-04 unterschieden sich jedoch nicht voneinander, wie auch die drei hochversorgten Gruppen Mn-08 bis Mn-32. Regressionsanalytisch wurde ein potentieller Zusammenhang zwischen Zufuhr und Organgehalt gefunden (Tabelle 32).

In der Phalanx prox. lag der Mangangehalt zwischen 0,023 (Gruppe Mn-00) und 0,149 mg/kg FM (Gruppe Mn-32). Signifikante Unterschiede traten zwischen Gruppe Mn-00 und Mn-04, sowie Mn-02 zu Mn-08 und Mn-08 zu Mn-16 auf. Wie im Herzen lässt sich auch hier der Zusammenhang zwischen oraler Manganzufuhr und Endkonzentration im Organ durch eine polynomische Regressionskurve 2. Ordnung beschreiben (Tabelle 32).

Im Pankreas wurden nach der Leber die höchsten Gehalte von maximal 1,46 mg/kg FM (Gruppe Mn-32) erreicht. Bis zur Gruppe Mn-08 unterschieden sich die Gruppen signifikant von einander. Die Abhängigkeit der Gewebemangankonzentration von der oralen Zufuhr wird durch eine Regressionsgleichung potentiellen Typs beschrieben (Tabelle 32).

5.6.2 Mangangehalte in der Galle

Die Bestimmung der Mangangehalte in der Galle wurde vorzeitig abgebrochen. Schon bei den Analysen zur Ermittlung der optimalen Probenverdünnung fielen extreme Schwankungen zwischen den einzelnen Individuen gleicher Gruppenzugehörigkeit auf. Ein gerichteter Einfluß der Manganzufuhr war nicht zu erkennen.

5.6.3 Mangangehalte im Kot

Mit steigender Manganversorgung nahmen erwartungsgemäß die Gehalte im Kot zu. In der Sammelphase II wurden zwischen 6,11 (Gruppe Mn-00) und 487 mg Mn/kg TM (Gruppe Mn-32) gefunden (Tabelle 33). Dabei unterschieden sich alle Gruppen signifikant voneinander. Die Proben der Sammelphase I wurden nicht analysiert, da die Ergebnisse keinen wesentlichen Erkenntnisfortschritt erwarten ließen.

Umgerechnet auf die Frischmasse entspricht dies 2,87 bis 201 mg Mn/kg FM.

Tabelle 33: Mangangehalte im Kot der Sammelphase II nach Gefriertrocknung sowie Trockenveraschung und Messung mittels GFAAS

<i>Gruppe</i>		<i>Mangan</i>	
		<i>mg/kg TM</i>	<i>mg/kg FM</i>
Mn-00	M	6,11	2,87
	SD	1,36	1,09
Mn-02	M	32,40	13,02
	SD	9,10	3,61
Mn-04	M	72,21	30,92
	SD	20,31	10,07
Mn-08	M	122,93	58,64
	SD	14,13	3,05
Mn-16	M	255,58	106,75
	SD	47,37	21,56
Mn-32	M	487,84	201,43
	SD	118,00	45,12

5.6.4 Mangangehalte im Vollblut

Die Mangangehalte im Vollblut waren signifikant durch die Manganzulage und den Entnahmeterrain beeinflusst (Tabelle 34). Während zu Versuchsbeginn (Versuchstag 0) die Gruppenmittelwerte von 24,6 bis 33,8 mg/kg FM auf einheitlichem Niveau lagen, waren die am 15. Versuchstag gefundenen Gehalte in Gruppe Mn-00 signifikant höher als in den Gruppen Mn-16 und Mn-32, obwohl in-

nerhalb der einzelnen Gruppen noch kein signifikanter Effekt der Versuchsdauer nachgewiesen werden konnte. Der Effekt der Versuchsdauer kam aber zwischen 15. und 29. Versuchstag deutlich zum Tragen. In den Gruppen Mn-00, 02, und 04 sank der Mangengehalt signifikant ab, in Gruppe Mn-08 war der Abfall bezogen auf den Versuchsbeginn signifikant. In den Gruppen Mn-16 und 32 blieb der Mangengehalt konstant. Bis zum 43. Versuchstag erfolgte keine signifikante Veränderung dieser Werte mehr. Den niedrigsten Wert wies Gruppe Mn-00 auf. Mn-02 lag etwas höher im Gehalt, dieser Unterschied war aber nicht signifikant. Gruppe Mn-04 lag signifikant höher als Gruppe Mn-00, unterschied sich aber sonst von keiner anderen Gruppe. Die Gruppen Mn-16 und Mn-32 lagen mit Gruppenmittelwerten von 21,0 und 22,7 auf einheitlichem Niveau und damit signifikant höher als die Gruppen Mn-00 und 02.

Tabelle 34: Mangengehalt im Vollblut gemessen mittels GFAAS

Gruppe	Versuchstag:	Mangengehalt ($\mu\text{g} / \text{kg FM}$)			
		1	15	29	43
Mn-00	M	31,03 ^{a, A}	32,62 ^{a, A}	15,34 ^{a, b, B}	11,81 ^{a, B}
	SD	7,80	3,69	5,06	1,34
Mn-02	M	33,79 ^{a, A}	24,76 ^{a, b, A}	13,29 ^{a, B}	13,31 ^{a, b, B}
	SD	10,11	5,77	2,83	1,43
Mn-04	M	24,55 ^{a, A}	23,91 ^{a, b, A, B}	12,32 ^{a, C}	14,82 ^{b, c, B, C}
	SD	6,25	8,94	2,69	1,40
Mn-08	M	30,66 ^{a, A}	22,39 ^{a, b, A, B}	16,62 ^{a, b, B}	15,82 ^{a, b, c, B}
	SD	6,96	8,94	4,26	4,77
Mn-16	M	30,73 ^{a, A}	19,63 ^{b, A}	21,52 ^{b, A}	20,96 ^{c, A}
	SD	9,84	6,45	4,25	5,76
Mn-32	M	24,72 ^{a, A}	18,13 ^{b, A}	22,10 ^{b, A}	22,65 ^{c, A}
	SD	9,66	3,34	4,91	5,76

5.6.5 Mangengehalte in Futtermitteln sowie in Eisen- und Vitaminpräparaten für Ferkel

Die beiden untersuchten Ferkelstarterfutter, welche aus dem Herkunftsbetrieb der Ferkel mitgeliefert wurden, unterschieden sich deutlich hinsichtlich ihres Mangengehaltes (Tabelle 35). Während das Produkt Cranwean (Fa. Cranswick, Münster) mit 84 mg Mn/kg FM hoch im Gehalt lag, enthielt das Futter Quickstart Prestarter (Fa. Vandeberg, Grossenlueder) mit 15 mg Mn/kg FM deutlich weniger Mangan.

Tabelle 35: Mangangehalte in zwei Stichproben von Starterfuttern für Ferkel aus dem Herkunftsbetrieb der Versuchstiere

<i>Probe</i>	<i>Mangan mg/kg FM</i>
Cranwean	84,21
Quickstart Prestarter	14,62

Auch in den Eisensupplementen war die Situation heterogen (Tabelle 36). Bei den Präparaten zur parenteralen Applikation lagen die Präparate Medifer 200 (Fa. Medistar Arzneimittel-Vertrieb GmbH, Holzwickede) und Ferriphor (Fa. Provet AG, Lyssach, Schweiz) mit 127 bzw 91 mg Mn/kg FM hoch während Ursoferan 100 (Fa. BERNA Veterinärprodukte, Bern, Schweiz) mit 4,4 mg Mn/kg FM sehr niedrig im Gehalt war.

Die Präparate zur oralen Anwendung, Bio-Weyxin 705 K-VE und Bio-Weyxin Fe-Vit-Do (Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn), lagen mit 191 und 118 mg Mn/kg FM ebenfalls hoch in der Mangankonzentration

Die Veraschung der Proben erforderte besondere Sorgfalt, da die Produkte, vor allem diejenigen zur oralen Anwendung, sehr zähflüssig waren. Daher neigten diese zur Schaumbildung und zum Spritzen in der Aufheizphase. Ein kontrolliertes und stark verzögertes Aufheizen war daher erforderlich. Die erhaltene Asche war extrem eisenreich und nur sehr langsam löslich.

Tabelle 36: Mangangehalte in verschiedenen Eisenpräparaten für Ferkel

<i>Probe</i>	<i>Applikationsart</i>	<i>Mangan mg/kg FM</i>
Medifer 200	Injektion, intramuskulär	127,1
Ursoferan 100	Injektion, intramuskulär	4,42
Ferriphor 10	Injektion, intramuskulär	91,0
Bio-Weyxin 705 K-VE	oral	190,6
Bio-Weyxin Fe-Vit-Do	oral	117,5

5.7 Manganaufnahme und faecale Exkretion

5.7.1 Manganaufnahme

Die aufgenommenen Manganmengen verhielten sich naturgemäß proportional zu den in der jeweiligen Diät eingemischten Mangansupplementen (Tabelle 37) und bewegten sich zwischen 0,22 mg Mn/d (Gruppen Mn-00) und 32,5 mg Mn/d (Gruppe Mn-32).

Tabelle 37: *Manganaufnahme und faecale Manganausscheidung der Ferkel sowie scheinbar absorbiertes Mangan in der Sammelphase II*

Gruppe		Manganaufnahme	faecale	scheinbar	scheinbare
		mg/d	Manganausscheidung mg/d	absorbiert mg/d	Absorption %
Mn-00	M	0,22 ^a	0,18 ^a	0,04 ^a	18,3
	SD	0,01	0,05	0,05	21,3
Mn-02	M	2,01 ^b	1,39 ^b	0,61 ^b	30,6
	SD	0,23	0,22	0,20	9,3
Mn-04	M	4,37 ^c	2,76 ^c	1,61 ^c	37,6
	SD	0,40	0,84	0,53	13,7
Mn-08	M	7,82 ^d	5,47 ^d	2,35 ^{b,c}	28,6
	SD	1,41	0,72	1,27	12,2
Mn-16	M	15,31 ^e	10,86 ^e	4,45 ^c	28,4
	SD	2,67	2,02	2,05	11,4
Mn-32	M	32,51 ^f	18,75 ^f	13,76 ^d	43,1
	SD	2,64	6,16	4,22	15,2

5.7.2 Tägliche Manganausscheidung im Kot

Die pro Tag faecal ausgeschiedene Manganmenge bewegte sich zwischen 0,18 mg Mn/d (Gruppe Mn-00) und 18,75 mg Mn/d (Gruppe Mn-32) (Tabelle 37). Entsprechend der Futteraufnahme traten auch hier signifikante Unterschiede zwischen allen Gruppen auf.

5.7.3 Scheinbare Manganabsorption

Die täglich absorbierte Manganmenge bewegte sich zwischen 40 µg Mn/d (Gruppe Mn-00) und 13,76 mg Mn/d (Gruppe Mn-32) (Tabelle 37). Sie war damit in Gruppe Mn-00 signifikant geringer, in Gruppe Mn-32 größer als die aller anderen Gruppen. Die Gruppen Mn-04, Mn-08 und Mn-16 waren nicht voneinander unterscheidbar. Die absorbierte Menge in der Gruppe Mn-02 war jedoch signifikant geringer als in den Gruppen Mn-04, Mn-16 und Mn-32.

Wird die scheinbare Absorption relativ, also in Prozent der aufgenommenen Manganmenge, angegeben, bewegten sich die Werte zwischen 18,3% (Gruppe Mn-00) und 43,1% (Gruppe Mn-36) (Tabelle 37). Es konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden. Lediglich Gruppe Mn-00 wies gegenüber Mn-32 eine tendenziell niedrigere Absorption auf.

5.8 Enzymaktivitäten

5.8.1 Manganabhängige Superoxiddismutase

Die Aktivität der MnSOD war in Herz, Muskel und Niere von der Manganversorgung signifikant beeinflusst. In Leber und Lunge dagegen reagierte sie nicht auf die veränderte Manganversorgung (Tabelle 38).

Tabelle 38: Aktivität der manganabhängigen Superoxiddismutase (MnSOD) in Herz-, Leber-, Lunge-, Muskel- und Nierengewebe der Ferkel

Gruppe		MnSOD (U/mg Protein)				
		Herz	Leber	Lunge	Muskel	Niere
Mn-00	M	7,06 ^a	4,95 ^a	2,2 ^a	1,77 ^{a, b}	4,85 ^a
	SD	1,26	1,24	0,49	1,37	0,63
Mn-02	M	6,96 ^a	4,69 ^a	3,46 ^a	0,73 ^a	5,26 ^{a, b}
	SD	1,5	0,85	0,52	0,93	0,36
Mn-04	M	11,04 ^b	5,56 ^a	3,2 ^a	2,49 ^{a, b}	6,23 ^{c, d}
	SD	2,56	1,65	0,77	1,31	0,45
Mn-08	M	12,53 ^{b, c}	4,63 ^a	3,2 ^a	3,62 ^b	5,92 ^{b, c}
	SD	1,67	1,18	0,97	1,32	0,73
Mn-16	M	15,11 ^c	4,58 ^a	3,03 ^a	3,60 ^b	6,93 ^d
	SD	1,82	1,28	0,75	1,50	0,44
Mn-32	M	14,92 ^c	4,96 ^a	3,18 ^a	5,21 ^b	6,07 ^{b, c, d}
	SD	1,44	0,81	0,77	3,83	0,58

Tabelle 39: Regressionsanalytischer Zusammenhang zwischen erreichtem Mangangehalt und gemessener Aktivität der MnSOD im Herzen

Gewebe	Regressionsgleichung	Bestimmtheitsmaß	Irrtumswahrscheinlichkeit
Herz	$y = 5,6063 \ln(x) + 22,553$	$r^2 = 0,8679$	$p < 0,005$

Am deutlichsten war der Einfluß im Herzmuskelgewebe. Die Gruppen Mn-00 und Mn-02 lagen auf einheitlich niedrigem Niveau, während Gruppe Mn-04 signifikant höhere Aktivitäten aufwies. Die Gruppen Mn-16 und Mn-32 wiesen wiederum signifikant höhere Aktivitäten auf, während sich Mn-08 nicht zu diesen drei Gruppen abgrenzen ließ. Während die Regressionsanalyse der Abhängigkeit der Enzymaktivität von der oralen Manganzufuhr nur unbefriedigende Ergebnisse erbrachte, lässt sich der enge Zusammenhang zwischen Gewebemangangehalt und Enzymaktivität durch eine logarithmische Gleichung beschreiben ().

Im Skelettmuskel war die Aktivität in der Gruppe Mn-02 signifikant geringer als in den höheren Gruppen (Mn-08 bis Mn-32). Mn-00 und Mn-04 wiesen zwar auch geringere Aktivitäten auf als es in den hohen Gruppen der Fall war, der Unterschied war hier aber nicht statistisch abzusichern.

In der Niere war die Aktivität in der Mangelgruppe Mn-00 am geringsten und erreichte ihr Maximum in der Gruppe Mn-16. Die Aktivität in Gruppe Mn-00 war damit signifikant kleiner als in der Gruppe Mn-04 und den darüber liegenden. Auch die Gruppen Mn-02 und Mn-08 wiesen signifikant geringere Aktivitäten als die Gruppe Mn-16 auf. Die Gruppen Mn-04 und Mn-32 unterschieden sich nicht signifikant von der Gruppe Mn-16.

5.8.2 Arginase

Die native Arginaseaktivität (ohne vorhergehende Aktivierung) war lediglich in der Gruppe Mn-00 signifikant gegenüber den Gruppen Mn-08 bis Mn-32 erniedrigt (Tabelle 40). Die Gruppen Mn-02 und Mn-04 ließen sich statistisch weder zur Gruppe Mn-00 noch den hohen Gruppen Mn-08 bis Mn-16 abgrenzen.

Nach Aktivierung traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf.

Tabelle 40: *Aktivität der Arginase im Lebergewebe der Ferkel vor und nach Aktivierung durch Mangan im Überschuss*

Gruppe		Aktivität (U/g Protein)		relative Aktivität
		unaktiviert	aktiviert	
Mn-00	M	4,36 ^a	8,36 ^a	0,53 ^a
	SD	1,14	2,45	0,03
Mn-02	M	6,00 ^{a,b}	10,44 ^a	0,58 ^a
	SD	2,01	3,14	0,08
Mn-04	M	6,79 ^{a,b}	9,17 ^a	0,77 ^{a,b}
	SD	2,30	4,11	0,12
Mn-08	M	7,39 ^b	9,25 ^a	0,84 ^{b,c}
	SD	1,94	3,30	0,21
Mn-16	M	7,80 ^b	7,30 ^a	1,06 ^{c,d}
	SD	2,42	1,75	0,12
Mn-32	M	8,30 ^b	7,69 ^a	1,11 ^d
	SD	2,78	2,80	0,18

Tabelle 41: *Regressionsanalytischer Zusammenhang zwischen erreichter Mangankonzentration in der Leber beziehungsweise aufgenommenem Mangan und gemessener relativer Arginaseaktivität in der Leber*

unabhängiger Parameter	Regressionsgleichung	Bestimmtheitsmaß	Irrtumswahrscheinlichkeit
Gewebemangengehalt	$y=0,3271x+0,3931$	$r^2=0,7344$	$p<0,005$
aufgenommenes Mangan	$y=0,6040x^{0,1652}$	$r^2=0,7010$	$p<0,005$

Bei der relativen Aktivität hingegen lagen die Gruppen Mn-00 und Mn-02 auf niedrigem Niveau. Die Gruppe Mn-04 war demgegenüber tendenziell erhöht, während die Gruppen oberhalb Mn-04 signifikant höhere Aktivitäten aufwiesen als Mn-00 und Mn-02. Das Maximum an relativer Aktivi-

tät wurde in Gruppe Mn-32 erreicht, dicht gefolgt von der Gruppe Mn-16 die sich statistisch nicht von Mn-32 abgrenzen ließ. In Gruppe Mn-08 war die Aktivität signifikant gegenüber Mn-32 und tendenziell gegenüber Mn-16 reduziert. Wird die relative Aktivität gegen die Mangankonzentration in der Leber aufgetragen, ergibt sich ein annähernd linearer Zusammenhang während die relative Arginaseaktivität vom aufgenommenen Mangan in potentieller Weise abhängt (Tabelle 41).

5.8.3 Amylase

Die Aktivitäten der Amylase im Pankreashomogenat lagen auf einheitlichem Niveau (Tabelle 42). Die Gruppenmittelwerte wiesen hohe Standardabweichungen auf. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen wurde nicht beobachtet.

Tabelle 42: *Amylaseaktivität im Pankreasgewebe der Ferkel*

<i>Gruppe</i>		<i>Amylase</i>
		<i>U/mg Protein</i>
Mn-00	M	57,16
	SD	13,77
Mn-02	M	56,15
	SD	13,85
Mn-04	M	50,43
	SD	15,71
Mn-08	M	54,49
	SD	23,32
Mn-16	M	44,35
	SD	5,71
Mn-32	M	50,40
	SD	9,11

5.9 Thiobarbitursäurereaktive Substanzen

Die Ergebnisse der Bestimmung der Thiobarbitursäurereaktiven Substanzen im Herzmuskelhomogenat lagen alle unterhalb der Bestimmungsgrenze. Von einer Messung mit konzentrierten Homogenaten wurde abgesehen, da schon bei Homogenaten mit einer Verdünnung unter 1:10 störende Trübungs- und Pipettierprobleme auftraten.

6 Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, möglichst genaue Angaben über den Manganbedarf des Ferkels zu ermitteln. Hierzu wurde die Auswirkung einer abgestuften Manganversorgung auf die Entwicklung von im Alter von 21 Tagen abgesetzten Ferkeln untersucht. Neben zootechnischen Parametern und dem Manganspiegel in Organen wurden die Aktivitäten der manganabhängigen Enzyme Arginase und Superoxid-Dismutase sowie die Konzentrationen von Produkten manganabhängiger Enzymsysteme des Knorpels gemessen. Des Weiteren wurden auch klinische Routineparameter untersucht.

6.1 Versuchsdiät

Die zu untersuchende Manganversorgungsspanne wurde nach unten vom technisch machbaren Minimum begrenzt. Nach oben wurde der Bereich durch die derzeit gültigen Versorgungsempfehlungen festgelegt [NRC (1998), GfE (1987), INRA (1989), ARC (1981)]. Von weiteren, über den Bedarf hinaus bis in den toxischen Bereich gehenden Stufen wurde abgesehen, da zum einen toxische Effekte bekanntermaßen erst bei sehr hohen Manganzulagen beobachtet werden können und zum anderen keine konkreten Hinweise vorlagen, dass bei Versorgung über den Bedarf hinaus, Effekte bezüglich Leistungssteigerung zu beobachten sind.

Die Abstufung des Mangangehaltes der einzelnen Diäten erfolgte logarithmisch. Dieses Vorgehen erschien unter dem Aspekt ratsam, da so vier der Manganstufen in der unteren Hälfte der untersuchten Spanne lagen. In diesem Bereich wurden nach dem Literaturstudium am ehesten Effekte einer unterschiedlichen Manganversorgung erwartet.

Die Rationsgestaltung basierte auf den NRC-Richtlinien (1998), da hier sehr detaillierte Angaben für alle Nährstoffe und Altersgruppen zusammengefasst sind und diese Empfehlungen die aktuellsten und auch weltweit verbreitetsten sind.

Voraussetzung für die Abstufung der Ration bis hinab zum Mangel waren manganarme Futterkomponenten. In den Futterwerttabellen von DLG und NRC werden für die meisten typischen Futterkomponenten relativ hohe native Mangangehalte angegeben, so zum Beispiel für Weizen nach DLG (1973) 35 mg Mn/kg TM und für Sojaextraktionsschrot 33 mg Mn/kg TM. Eine schweinetypische Ration auf Basis von Weizen und Sojaextraktionsschrot war damit für das Experiment nicht geeignet. Milchprodukte hingegen weisen sehr niedrige Mangangehalte auf. Folglich musste eine milchbetonte Ration teilsynthetisch ergänzt werden.

Als Milchprodukte kamen sprühgetrocknetes Magermilchpulver und Casein in die engere Auswahl. Diese Produkte wurden auch in früheren Studien zur Herstellung manganarmer Rationen herangezogen. Die Gestaltung einer ausgewogenen Ration ist mit beiden Komponenten möglich, aus Kostengründen wurde hier das preiswertere Magermilchpulver gewählt. Da auch das biologisch hochwertige Milcheiweiß nicht zu 100% dem Aminosäurebedarf des Ferkels entspricht, wurden DL-Methionin und L-Threonin ergänzt. Die Ration wurde so berechnet, dass jeweils der Bedarf an den einzelnen Aminosäuren nach NRC (1998) gedeckt wurde. Infolge dieses Vorgehens wurde der empfohlene Rohproteingehalt nach NRC (1998) leicht unterschritten. Dies konnte aber toleriert werden, weil das Schwein als Monogastrier keinen Stickstoffbedarf im engeren Sinne, sondern einen Aminosäurebedarf hat, welcher durch die verwendete Diät hinreichend gedeckt wurde.

Körnermais weist im Vergleich zu anderen Futtermitteln geringe Mangangehalte auf, die im Verlauf der wässrigen Extraktion bei der Stärkegewinnung noch weiter erniedrigt werden. Damit stellte Maisstärke eine sehr manganarme Kohlenhydratquelle dar. Bei den Versuchstieren handelte es sich wie erwähnt um 21 Tage alte, frisch abgesetzte Ferkel. In diesem Alter kann nicht davon ausgegangen werden, dass die Tiere ausreichend Amylase bilden können um eine rein stärkebasierte Ration zu verdauen. Um größere Probleme in der Anfütterungsphase zu vermeiden, wurde daher ein Teil der Kohlenhydratfraktion in Form von Glucose zugeführt. So konnte zwar die Diarrhoegefahr durch insuffiziente Stärkeverdauung nicht gänzlich ausgeschlossen werden, jedoch war das Futter dadurch auch geeignet, bei Auftreten von Diarrhoe weiter gefüttert zu werden und eine basale Energieversorgung sicherzustellen.

Zur Staubbindung wurde Sojaöl eingesetzt. Darüber hinaus wurde die Diät energetisch aufgewertet und mit essentiellen Fettsäuren angereichert. Pflanzliche Öle sind weitestgehend frei von Mineralstoffen, somit konnte auf ein gebräuchliches Sojaöl aus dem Landhandel zurückgegriffen werden.

Obwohl das Schwein als Monogastrier keinen Rohfaserbedarf im engeren Sinne hat, wurde von Anfang an eine Beimischung von 4% Zellulose eingeplant um die Diarrhoegefahr zu senken, die Peristaltik im Dickdarm zu begünstigen und um einen festen, geformten Kot zu erhalten. Da sich bei der Rationsplanung jedoch mit den gewählten Futterkomponenten deutlich höhere Energie- und Proteinkonzentrationen als nach NRC (1998) empfohlen ergaben, wurde der Zelluloseanteil auf 6% im Starterfutter und 6,5% im Ferkelfutter angehoben und somit die Energiekonzentration erniedrigt. Die Alternative zu diesem Vorgehen, eine restriktivere Fütterung mit inhaltsreicherem Futter, wurde für nicht optimal befunden, da dieses Regime zu keiner Sättigung der Tiere führt, was mit gesteigerter Unruhe einhergehen kann. Durch zu hohe Energiekonzentrationen im Ferkelfutter steigt überdies die Gefahr von Verdauungsstörungen, die sehr rasch auch zur gefürchteten Ödemkrankheit führen können.

Das Futter wurde in pulveriger Form verfüttert. Eine Pelletierung wäre hinsichtlich der Futterverluste und der Handhabung zwar wünschenswert gewesen, allerdings zeigten Pelletierversuche, dass sich das Futter selbst bei Verwendung von Matrizen mit kurzen Kanallängen sehr stark erhitzte, Bräunung an der Oberfläche der Pellets auftrat und die Pellets sehr hart wurden. Da somit von verminderter Aminosäureverfügbarkeit infolge Maillard-Produkten und von Vitaminabbau ausgegangen werden musste, darüber hinaus die hohe Festigkeit der Pellets als nicht adäquat für junge Ferkel erschien, wurde von der Pelletierung abgesehen. Des Weiteren konnte so das Risiko einer Mangankontamination durch Abrieb aus der Pelletierpresse vermieden werden (in derartigen Vorrichtungen werden unter anderem manganreiche Hartstähle verwendet).

Bei der Analyse der so hergestellten Ration wurden bis auf die Energiegehalte die Vorgaben eingehalten. Die geschätzte umsetzbare Energie lag hingegen im Starterfutter um 4% und im Ferkelfutter um 8% unter den erwarteten Werten. Während in der Rationsberechnung lediglich die durch die Futterkomponenten eingebrachten umsetzbaren Energieanteile aufsummiert wurden, stützt sich die Schätzung nach GfE (1987) auf die Ergebnisse der erweiterten Weender Analyse des fertigen Alleinfutters. Diese Formel ist ein regressionsanalytisches Konstrukt zur Schätzung von Energiegehalten in typischen Schweinerationen. Die hier verwendete Diät wich durch ihren teilsynthetischen Aufbau, im besonderen durch den relativ hohen Gehalt reiner Zellulose, von typischen Schweinediäten ab. In nativen Diäten hingegen ist auch immer Lignin enthalten, das durch die ADF (Acid Detergent Fibre)- oder Rohfaser-Bestimmung in die Schätzung einfließt und im Gegensatz zur Cellulose einen negativen Einfluss auf die Verdauung hat. Es wird daher davon ausgegangen, dass die Abweichung durch einen Schätzfehler bedingt ist.

6.2 Zootechnische Parameter

6.2.1 Futteraufnahme

Die Futteraufnahme stieg bis zur fünften Versuchswoche kontinuierlich an (Abbildung 4) und stagnierte in der sechsten Woche auf hohem Niveau. Die Standardabweichung sowohl der Gruppenmittelwerte, als auch des Gesamtmittelwertes war an diesem Termin deutlich höher als zuvor. Die Ursache könnte im zunehmenden Platzmangel in den Stoffwechselkäfigen und einer dadurch bedingten Behinderung der Futteraufnahme der enorm gewachsenen Tiere begründet sein. Die Käfige waren bereits zu Beginn der sechsten Woche auf ihre maximale Größe eingestellt und besonders für die größeren Tiere wurde der Platz knapp. Die Futterluken erschienen für die durch den hohen Pietrainanteil breitschultrigen Tiere knapp bemessen, was die Futteraufnahme zusätzlich behinderte.

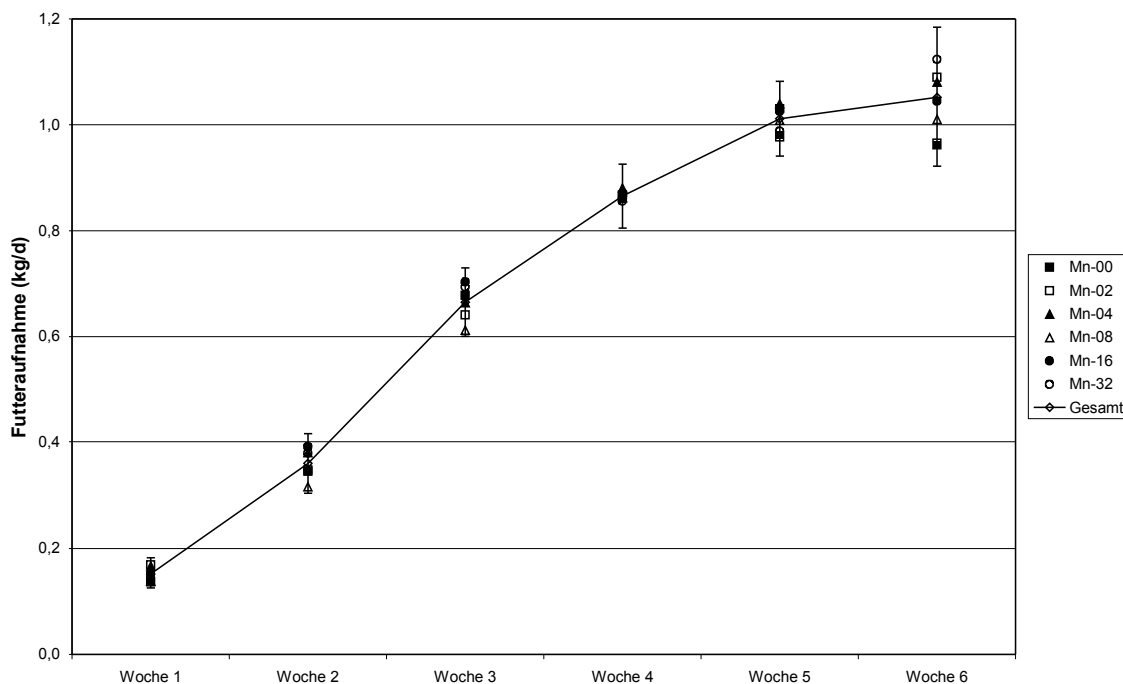


Abbildung 4: Entwicklung der Futteraufnahme der Ferkel im Versuchsverlauf

Eine interessante Beobachtung ist die signifikant geringere Futteraufnahme der Tiere in Gruppe Mn-00 gegenüber Mn-32 in der letzten Woche. Im Zusammenhang mit Manganmangel wurde ein Rückgang der Futteraufnahme nur in extremen Mangelsituationen in Verbindung mit schon vorhandenen klinischen Veränderungen beobachtet (HEINEMANN 1991). Im vorliegenden Fall können aber weder klinische noch subklinische Veränderungen am Bewegungsapparat für die reduzierte Futteraufnahme verantwortlich gemacht werden, da nicht davon auszugehen ist, dass die biochemisch festgestellten geringfügigen Veränderungen der Knorpelzusammensetzung bereits zu Schmerzen führten. Wie die in der Manganmangelgruppe beobachtete reduzierte Futteraufnahme zustande kommt, kann zum jetzigen Stand der Forschung nicht beantwortet werden.

6.2.2 Tägliche Zunahme

Nachdem die Tiere trotz des Stresses durch Absetzen und Transport bereits in der Eingewöhnungsphase an Gewicht zulegten, stagnierte das Wachstum in der ersten Versuchswoche (Abbildung 5). Diese Stagnation kann auf die Belastung der Tiere infolge der ungewohnten Bedingungen in der Käfighaltung zurückgeführt werden. Diese Umstallung bedeutete einen Übergang von Gruppen- zu Einzelhaltung aber auch eine versuchsbedingte, fast vollständige Einschränkung der Bewegungsfreiheit der Tiere. Die Tiere zeigten in diesen Tagen weitgehende Futterverweigerung und große Unruhe. Nachdem die Tiere sich an diese Umgebung gewöhnt hatten, stieg jedoch die Gewichtszunahme kontinuierlich bis zur 5. Versuchswoche an.

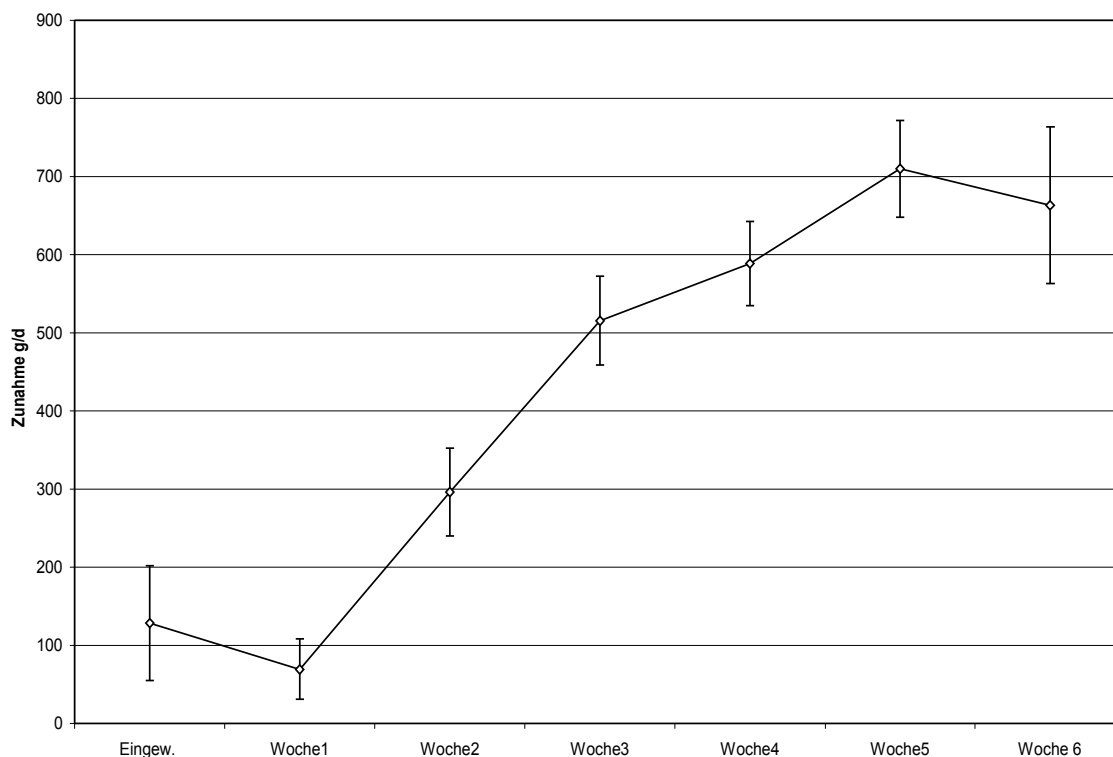


Abbildung 5: Tägliche Gewichtszunahme der Ferkel im Versuchsverlauf (n=36)

Die erreichten täglichen Zunahmen von bis zu 710 g/d in der 5. Versuchswoche waren in diesem Altersabschnitt unter den gegebenen Versuchsbedingungen höher, als dies in der üblichen Flatdecks-haltung der Fall ist. So lagen die täglichen Zunahmen von Ferkeln unter optimalen Bedingungen im Flatdeck nach Berichten des Landwirtschaftszentrums Düsse bei 375 g/d im Altersabschnitt von 8 bis 25 kg (STALLJOHANN 2003). Als Ursachen für diese sehr hohen Zunahmen können das hohe genetische Potential der Tiere, das hochwertige Futter und die geringen energetischen Verluste durch Bewegung infolge der starken Einschränkung des Bewegungsspielraums angesehen werden. Darüber hinaus waren die klimatischen und hygienischen Bedingungen infolge der geringen Tierzahl pro Quadratmeter Stallfläche deutlich besser als es in der landwirtschaftlichen Tierhaltung in der Regel der Fall ist.

Der leichte Rückgang in der letzten Versuchswoche ist nicht signifikant. Eine weitere deutliche Steigerung der Zunahmen kann in diesem Wachstumsabschnitt und auf solch hohem Niveau nicht mehr erwartet werden.

Die Manganversorgung hatte in den eigenen Untersuchungen keinen Einfluß auf die tägliche Zunahme und die Endgewichte ($\bar{O} = 27,13 \pm 1,69$ kg) nach 6 Wochen. Auch in anderen Studien, wie jene von NEHER et al. (1956), PLUMLEE et al. (1956) und BURCH et al. (1975), konnte bei Ferkeln in diesem Gewichtsbereich kein Einfluss einer Manganmangelversorgung auf die Körpergewichtszunahme festgestellt werden. Dieser Effekt trat jedoch dann auf, wenn die Sauen, von denen die Ver-

suchsferkel abgesetzt wurden, bereits manganarm ernährt wurden (KAYONGO-MALE 1980). Die Ferkel der vorliegenden Studie hatten hingegen schon in der Säugephase die Möglichkeit Mn-supplementiertes Beifutter aufzunehmen.

6.2.3 Futtermittelnutzung

Der Futtermittelverbrauch erreichte einen Mittelwert über alle Tiere und die gesamte Versuchsperiode von lediglich 1,45 kg Futter / kg Zuwachs. Im Flatdeck werden heute unter optimalen Bedingungen Werte um 1,7 kg Futter / kg Zuwachs erreicht (STALLJOHANN 2003). Grund für diese guten Werte ist das bedarfsgerechte, sehr hoch verdauliche Futter mit geringem Wasseranteil. Des Weiteren konnte Energie für das Wachstum genutzt werden, die im Flatdeck für Bewegung und Rankenkämpfe aufgewendet worden wäre. Dass die abgestufte Manganzufuhr keinen Einfluss auf die Futtermittelnutzung hatte, lässt vermuten, dass bis zum Versuchsende durch den Manganmangel keine gravierenden Veränderungen im Stoffwechsel ausgelöst wurden, denn jede Veränderung des Stoffwechsels würde eine Abnahme seiner Effizienz, also auch eine Verschlechterung der Futtermittelnutzung bedeuten. Solche Beobachtungen könnten lediglich durch übermäßige Wassereinlagerung kaschiert werden.

Die Werte in der ersten Woche zeigen eine schlechte und uneinheitliche Futtermittelnutzung (Abbildung 6). Dies ist, wie bei den anderen Parametern, auf den Stress und die Futtermittelverweigerung infolge der Gewöhnung an die neue Umgebung zurückzuführen (siehe 6.2.2).

Grund für den in den letzten Versuchswochen leicht zunehmenden Futteraufwand ist der zunehmende Erhaltungsbedarf der Tiere sowie der allmählich ansteigende Fettansatz im Zuwachs der Lebendmasse.

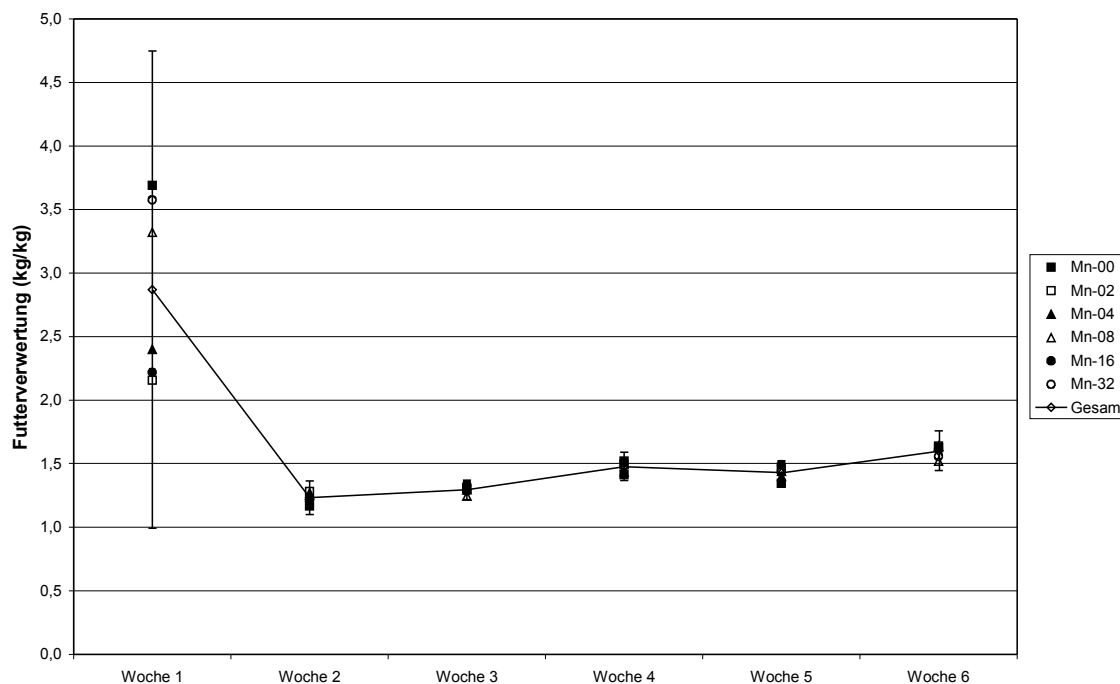


Abbildung 6: Futterverwertung der Ferkel in den einzelnen Versuchswochen

6.3 Schlachtbefunde

6.3.1 Pathologische Veränderungen

Bei einigen Tieren konnten bei der Schlachtung Veränderungen an Organen festgestellt werden (Anhangstabelle 15). Die häufigste Veränderung waren Zystennieren. Bei der Spezies Hausschwein wird diese Veränderung relativ häufig bei der Schlachtung vorgefunden. Zystennieren sind als angeborene oder erworbene Mißbildung einzustufen, welche in der Regel die renale Ausscheidungskapazität des Tiere nicht herabsetzen, auch wenn die Zysten mitunter große Teile des Nierenvolumens einnehmen.

Samenstrangabszesse kommen relativ selten vor und sind durch Infektionen der Wunde nach der Kastration bedingt. In dem hier vorliegenden Fall wurde eine geringgradige Umfangsvermehrung durch den Abszess über die letzten beiden Versuchswochen beobachtet. Das Tier war dadurch in seinem Allgemeinbefinden jedoch nicht merklich gestört und wurde daher im Versuch belassen.

Begrenzte Verklebungen des Brustfells kommen beim Schwein bestandsweise gehäuft vor. Sie sind Residuen von bakteriellen Lungeninfektionen, vor allem mit den Erregern *Aktinobazillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyorhinis* und *Chlamydia* spp. (PLONAIT 1997). Da die Tiere in ihrem Verhalten unauffällig waren und auch die zootechnischen Daten auf keine Beeinträchtigung hinwiesen, wurden die Tiere regulär ausgewertet.

Die Aufhellungen auf der Leber des Tieres aus Käfig 23 (Gruppe Mn-08) waren geringgradig und ließen auf keinen spezifischen Krankheitsverlauf schließen. Sie entsprachen nicht den bekannten Veränderungen bei entzündlicher oder toxischer Schädigung der Leber.

Bei dem atrophischen Hoden (Tier aus Käfig 15, Gruppe Mn-04) kann es sich um die Folge einer unvollständigen Kastration handeln, bei der etwas Hodengewebe am Samenstrang zurückblieb, oder um eine Missbildung des Hodens. Selbst wenn dieser Hoden endokrin funktionell gewesen wäre, wäre im betroffenen Zeitabschnitt nicht mit einer Wirkung durch freigesetzte Androgene zu rechnen, da die Pubertät des Ebers erst deutlich später in der Mastphase einsetzt.

6.4 Blutuntersuchung

Die Parameter des roten Blutbildes waren mit Ausnahme der MCHC unbeeinflusst von der zugeführten Manganzufuhr, aber deutlich abhängig vom Alter der Tiere. Die tendenziellen Unterschiede von PCV, HGB und RBC am ersten Entnahmetag sind nicht auf die Manganzufuhr zurückzuführen, da zu diesem Zeitpunkt noch keine differenzierte Manganzufuhr stattfand. Da das Phänomen bei den weiteren Blutentnahmen nicht reproduziert werden konnte, wird es als Artefakt eingestuft.

Ein möglicher Einfluss von Mangan auf die Erythropoese besteht über die Eisenverwertung im Darmtrakt und konsekutiv veränderter Porphyrinsynthese. Bei den hier verwendeten Mangangehalten im Futter und 150 mg Fe/kg FM war nicht mit deutlichen Veränderungen zu rechnen, da solche Effekte erst bei sehr hohen Manganüberschüssen (2000 mg Mn/kg FM) beschrieben wurden (MATRONE et al. 1959).

Die Eisenversorgung ist mit 150 mg Fe/kg FM in diesem Altersabschnitt auf Grundlage von GfE (1987) und NRC (1998) als sicher bedarfsdeckend einzustufen. Trotzdem erkennt man an den Ergebnissen, dass auch unter diesen Umständen die Porphyrinsynthese und Hämatopoese beim Ferkel ihre Grenzen erreicht. Zwar stieg die Erythrozytenzahl (Abbildung 7) über den kompletten Versuchsverlauf an, während der Hämoglobingehalt (Abbildung 8) bis zur dritten Blutentnahme zunächst abnahm und erst zum letzten Termin anstieg. Ähnlich gestaltet sich auch der Verlauf des Hämatokrits (Abbildung 9). Die Hämoglobinsynthese kann demnach bei Ferkeln bis zur Mitte der Aufzuchtphase kaum mit dem Körperwachstum schritthalten, wie dies auch aus früheren Untersuchungen in diesem Lebendmassebereich berichtet wird (PALLAUF und PIPPIG 1997).

Dass selbst im Bereich adäquater Versorgung eine Interaktion zwischen Eisen und Manganstoffwechsel zu bestehen scheint, zeigt die Erhöhung der MCHC in der Gruppe Mn-00 gegenüber Mn-16 und die tendenzielle Erhöhung der Retikulozytenzahl in Gruppe Mn-02 gegenüber Mn-32

am letzten Entnahmetag. Die MCHC, also die Konzentration von Hämoglobin im Cytosol der Erythrozyten besagt im großen und ganzen, ob bei der Erythropoese genügend Hämoglobin zur Verfügung steht. Dieses Ergebnis sollte aber nicht überbewertet werden, da deutliche Veränderungen des HGB fehlen und nicht durch Messungen des Serumeisens verifiziert wurden.

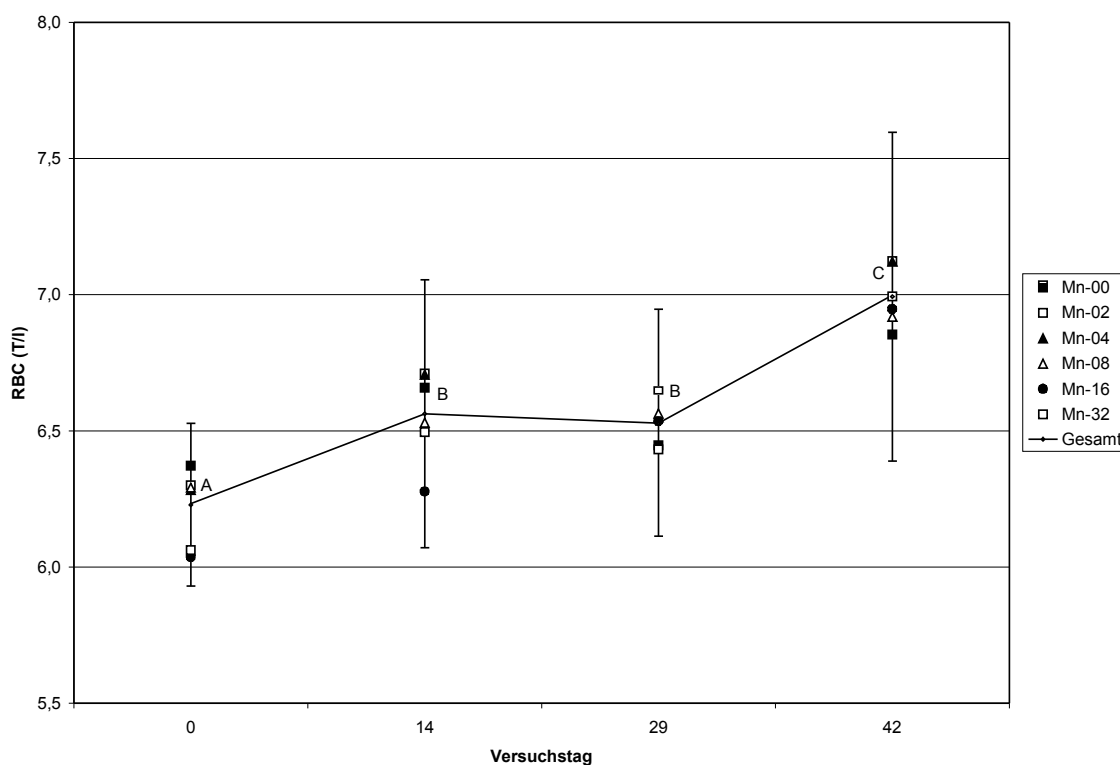


Abbildung 7: Entwicklung der Erythrozytenzahl in den Blutproben der Ferkel über den Versuchszeitraum

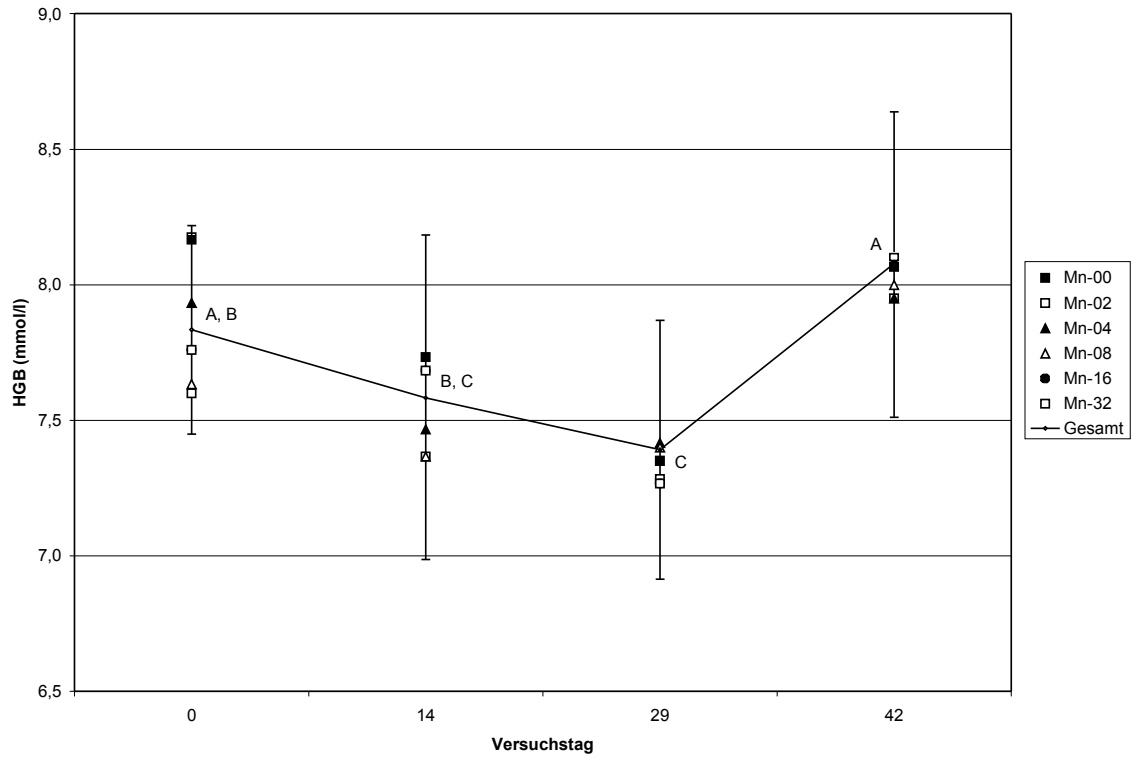


Abbildung 8: Entwicklung der Hämoglobinkonzentration in den Blutproben der Ferkel über den Versuchszeitraum

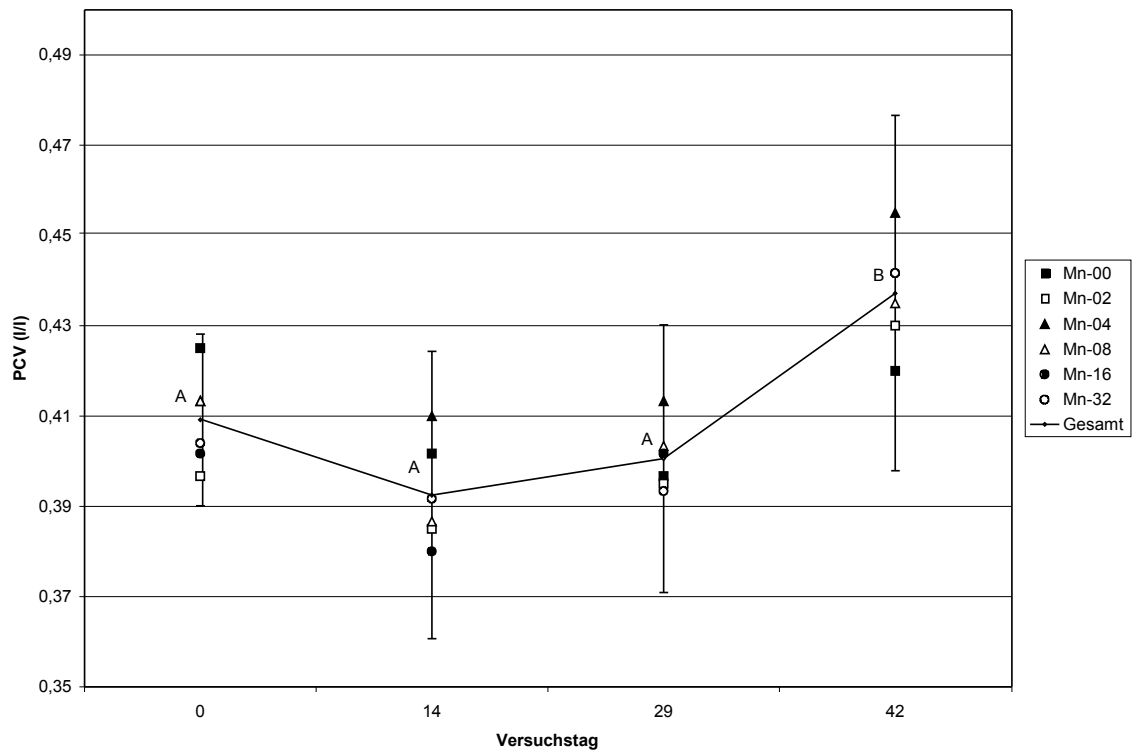


Abbildung 9: Entwicklung des Hämatokrits in den Blutproben der Ferkel über den Versuchszeitraum

6.5 Scheinbare Verdaulichkeit von Mangan

In der ausgewerteten Sammelphase (sechste Versuchswoche) wiesen alle Gruppenmittelwerte positive Verdaulichkeiten auf. Dies muss nicht zwangsläufig der Fall sein. Werden Individuen kurzfristig von einer adäquaten Versorgung auf eine Mangelversorgung umgestellt, kommt es zu einer Phase der Ausschwemmung der Körperreserven. In dieser Phase ist die Bilanz negativ. Lediglich das Tier in Käfig Nummer 1 (Gruppe Mn-00) wies mit -40 ng Mn/d eine leicht negative Mn-Verdaulichkeit auf. Über die Geschwindigkeit mit der die Ausschwemmung beim Ferkel erfolgt, liegen keine Daten vor. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Tiere innerhalb der Versuchszeit ihr Gewicht mehr als vervierfacht haben. Damit namen die Manganreserven, die vor Versuchsbeginn gebildet werden konnten, in erster Linie durch „Verdünnung“ ab.

Von der Gruppe Mn-04 bis Mn-16 nahm die scheinbare Verdaulichkeit des Mangans nur geringfügig zu (Abbildung 10). Dem gegenüber war das scheinbar verdaute Mangan in Gruppe Mn-00 deutlich reduziert, in Gruppe Mn-32 deutlich erhöht. Dies ist eine interessante Beobachtung, da sich weder die gefundenen Organmangangehalte noch eine Enzymaktivität oder Knorpelparameter zwischen Gruppe Mn-16 und Mn-32 signifikant unterschieden.

Bei Betrachtung der Mangankonzentrationen im Kot fällt auf, dass diese, trotz positiver Bilanz, deutlich die Konzentration im Futter überschreiten. Diese Anreicherung ist im vorliegenden Versuch vor allem auf die sehr hohe Verdaulichkeit der teilsynthetischen Ration zurückzuführen. Da aber auch in jeder praxisrelevanten Schweineration die Verdaulichkeit der organischen Masse die Manganverwertung übersteigt, ist auch bei diesen Rationen mit einer Aufkonzentration der Mangangehalte im Kot zu rechnen. Dieser Effekt tritt bei hohen Mangangehalten im Futter noch deutlicher zutage. Daraus resultieren letztendlich hohe Mangangehalte in der Gülle, deren Einsatz unter ökologischen Gesichtspunkten in diesen Fällen kritisch zu bewerten ist (L'HERROUX et al. 1997).

Obwohl auch der Urin der Ferkel in der Sammelphase aufgefangen worden war, wurde von der durchgehenden Bestimmung der Mangangehalte in diesen Proben abgesehen. Aufgrund der mehlig-darreichungsform des Futters konnte trotz feiner Einlegesiebe unter den Spaltenböden der Stoffwechselkäfige eine Kontamination des Harnes durch die Diät nicht vollständig vermieden werden. Die Kontamination war bereits mit bloßem Auge durch Trübung des Harnes erkennbar. Die Angaben zu den absoluten Gehalten von Mangan in physiologischem Schweineurin, belaufen sich in der Literatur um 1 bis $2 \mu\text{g/L}$ (z.B. RHEAUME und CHAVEZ 1989). Dies ist, bezogen auf das Gewicht, lediglich ein Tausendstel des Mangangehaltes der Diät der Gruppe Mn-02. Stichprobenartige Messungen des Mangangehaltes von aufgefangenem Urin ergaben dementsprechend große, kontaminationsbedingte Schwankungen des Mangangehaltes mit Variationskoeffizienten von über

100% innerhalb einzelner Gruppen. Die Bestimmung der Urinmangangehalte wurde daher nicht weiter verfolgt. Die Mangankonzentration einzelner Proben lag nur wenig höher als die Bestimmbarkeitsgrenze von $1,0 \mu\text{g Mn/L}$ und in der Mangelgruppe (Mn-00) teilweise sogar unter der Nachweisgrenze von $0,50 \mu\text{g/L}$. Da die Manganverluste über den Urin extrem niedrig sind, ist der Unterschied zwischen dem scheinbar verdauten Mangan und dem retinierten Mangan praktisch nicht relevant.

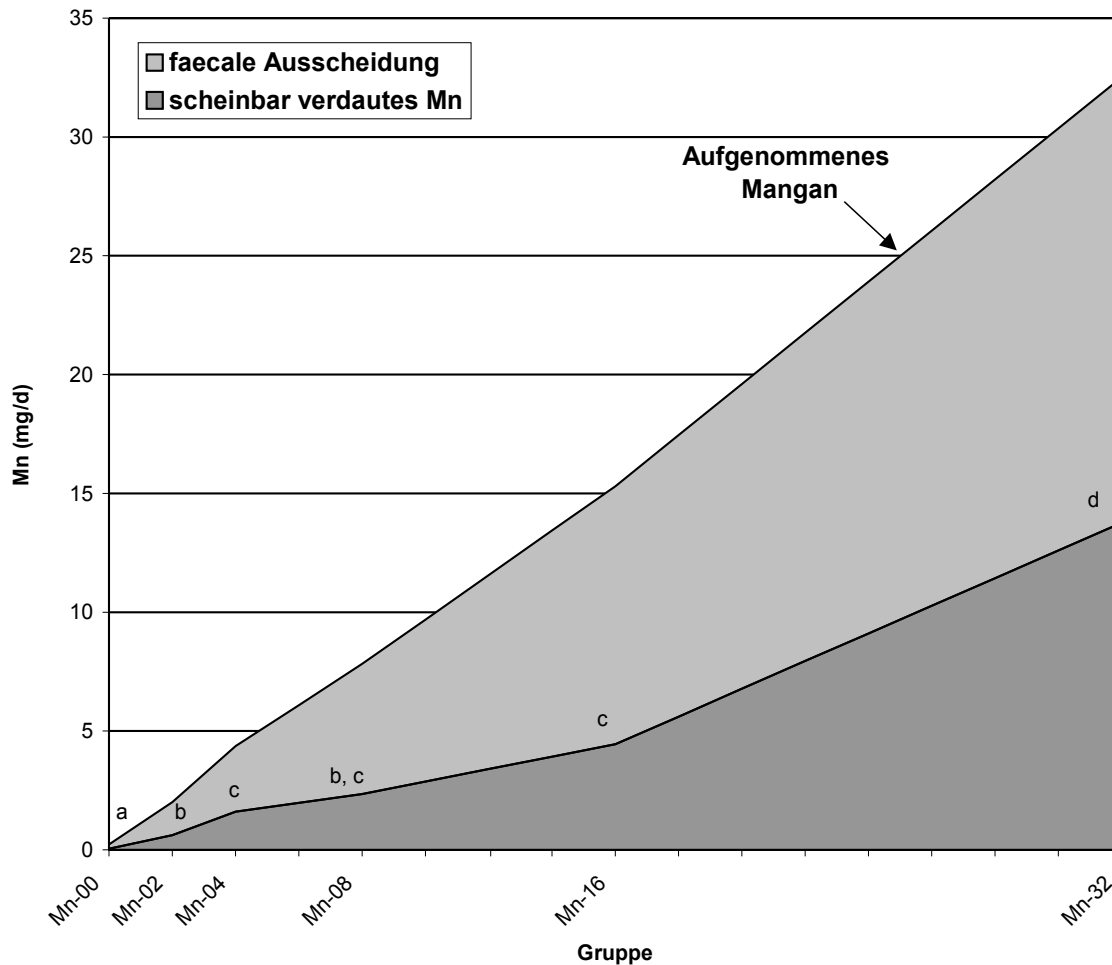


Abbildung 10: Manganaufnahme, -ausscheidung und scheinbar verdautes Mangan in Abhängigkeit von der Manganzufuhr der Ferkel in der 6. Versuchswoche

Die scheinbare Absorption war hohen individuellen Schwankungen unterworfen, wie die hohen Standardabweichungen innerhalb der einzelnen Gruppen zeigen. Daher waren bei diesem Parameter keine signifikanten Unterschiede feststellbar. Unter Betrachtung dieses Aspekts erscheint die scheinbare Verdaulichkeit nicht geeignet zur Ermittlung einer adäquaten Manganversorgung. RHEAUME und CHAVEZ (1989) stellten fest, dass auch die Manganbilanz selbst bei extremen Unterschieden in der Manganzufuhr nicht signifikant beeinflusst war.

6.6 Mangangehalte in Geweben

In den Geweben wurde der Mangangehalt mittels der Atomabsorptionsspektroskopie im Graphitrohr bestimmt. Dabei konnten, bis auf den Skelettmuskel, alle Organe so aufgearbeitet werden, dass die Proben, ggf. nach Verdünnung, innerhalb der Standardkurve und oberhalb der Bestimmungsgrenze lagen. Lediglich bei den Muskelproben lagen die Gruppen Mn-00 bis Mn-08 unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,05 mg Mn/kg FM.

Die Ergebnisse werden im folgenden überwiegend mit Werten von BURCH et al. (1975) verglichen, da in jener Arbeit eine ähnliche Auswahl von Organen bei vergleichbar supplementierten Diäten untersucht wurde. Des Weiteren erscheinen die Ergebnisse von BURCH et al. (1975) auf Grund des Fortschritts in der Mangananalytik gegenüber noch wesentlich älteren Arbeiten am ehesten geeignet, diskutiert zu werden.

Die Leber war das Organ mit den erwartungsgemäß höchsten Mangankonzentrationen. Da die Leber Ausscheidungs- und Speicherorgan darstellt, war hier auch die Reaktion auf die variierende Zufuhr am intensivsten. So betrug der Mangangehalt in der Leber der Tiere der Mangelgruppe (Mn-00) lediglich 14% des Gehaltes der am höchsten supplementierten Gruppe (Mn-32) (Abbildung 11). Die Zunahme der Organkonzentration erfolgte überwiegend von Gruppe Mn-00 hin zu Mn-08. Hier wurde schon 78% der maximalen Gewebekonzentration erreicht. Obwohl zwischen den Gruppen Mn-16 und Mn-32 die Manganzufuhr noch einmal verdoppelt wurde, war der Mangangehalt in der Leber von diesem Schritt nahezu unbeeinflusst. Auch die graphische Darstellung der Regressionsfunktion spiegelt deutlich wieder, dass die Haupteffekte im Bereich der unteren vier Gruppen erfolgen (Abbildung 12). Diese Beobachtung zeigt deutlich die homöostatische Regulation der Manganretention. Die Meßwerte bestätigen Befunde von PLUMLEE et al. (1956) und BURCH et al. (1975). Bei BURCH et al. (1975) lagen die mittels Neutronenaktivierungsanalyse gefundenen Lebermangangehalte bei einer Zufuhr von 22 mg Mn/kg Futter mit 3 mg Mn/kg FM allerdings höher als in dieser Studie.

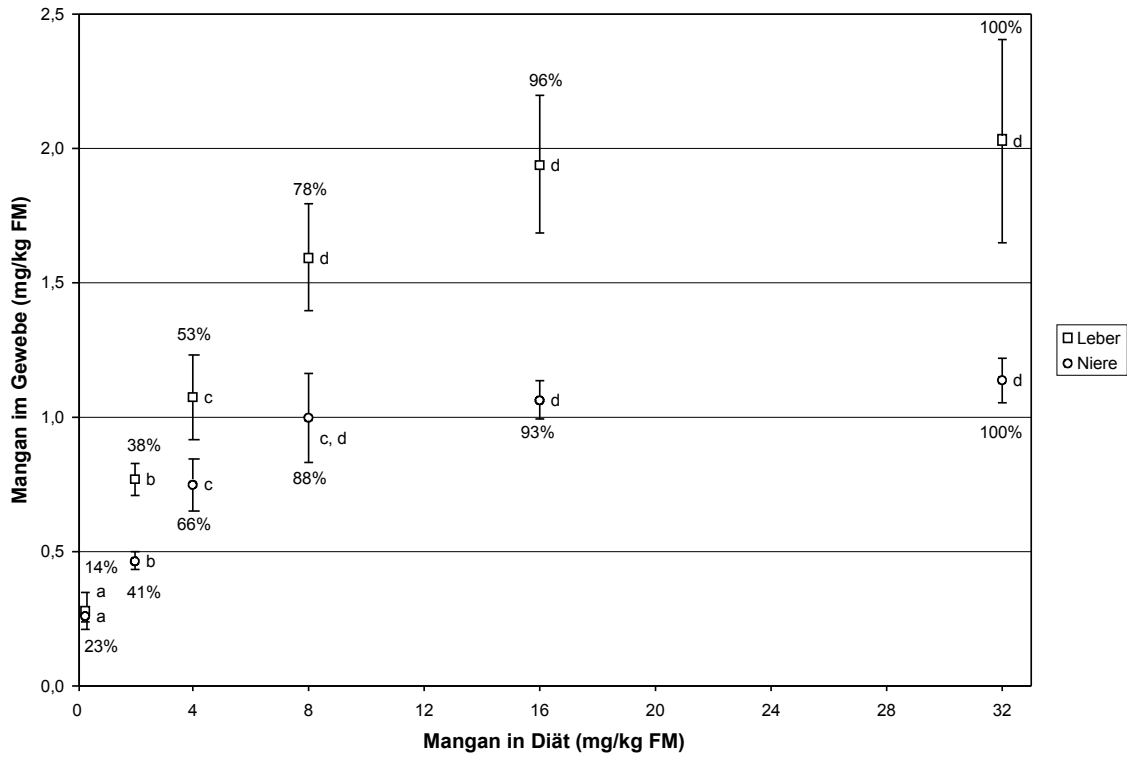


Abbildung 11: Mangangehalte in Leber und Niere der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

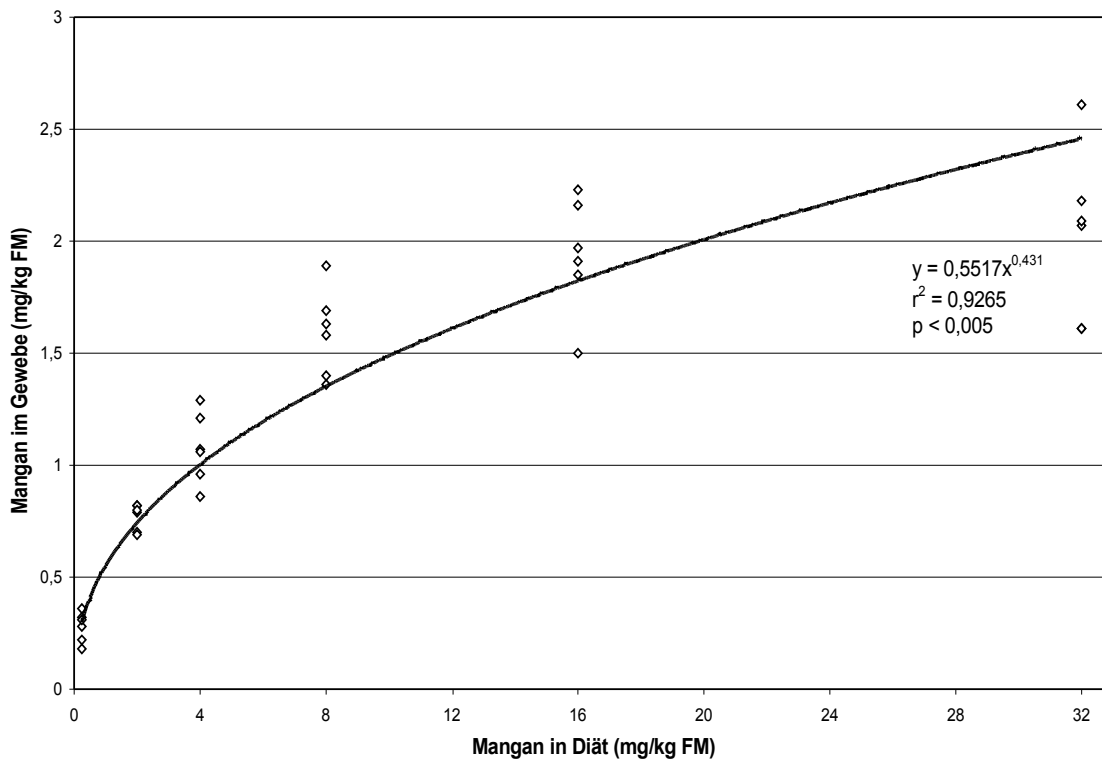


Abbildung 12: Abhängigkeit des Mangangehaltes in der Leber der Ferkel von der oralen Manganzufuhr

In der Niere betrug die maximale Mangankonzentration mit 1,14 mg Mn/kg FM (Gruppe Mn-32) nur etwa die Hälfte des Wertes in der Leber. In Gruppe Mn-00 ging der Gehalt auf 23% dieses Wertes zurück. In Gruppe Mn-08 wurde schon 88% des maximalen Gehaltes erreicht, obwohl die Zufuhr in den Gruppen darüber noch auf das Vierfache gesteigert wurde. Damit konnte gezeigt werden, dass die Manganretention in einem weiten Bereich durch Homöostase geregelt werden kann. Die Darstellung der Regressionskurve flacht allerdings deutlich weniger ab als dies in der Leber der Fall war (Abbildung 13). Die Befunde sind wiederum vergleichbar mit jenen von BURCH et al. (1975), geben aber infolge der feineren Abstufung der Mn-Zufuhr mehr Details wieder.

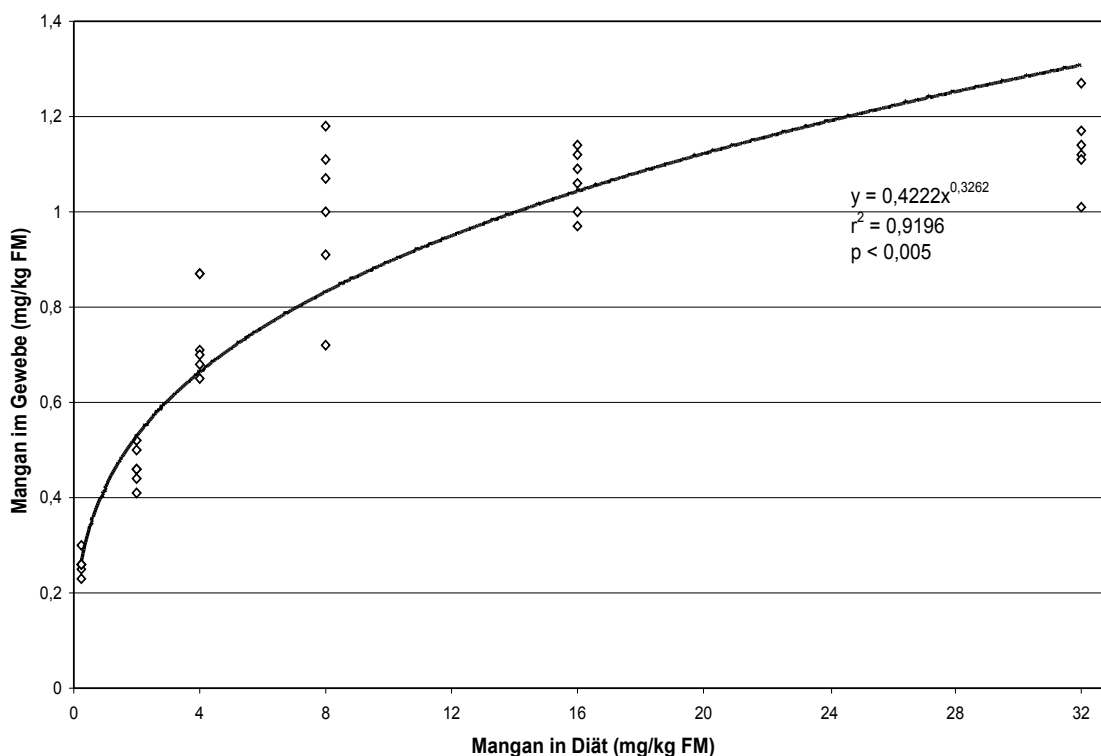


Abbildung 13: Abhängigkeit des Mangangehaltes in der Niere der Ferkel von der Zufuhr

In den übrigen Organen, mit Ausnahme des Pankreas, lagen die Mangangehalte auf deutlich niedrigerem Niveau. So wurden im Herz maximal 0,293 mg Mn/kg FM erreicht, was lediglich 14,4% des maximalen Gehalts in der Leber entspricht. Der gefundene Gehalt in der Mangelgruppe betrug mit 0,060 mg Mn/kg FM lediglich 20% des Wertes der Gruppe Mn-32 (Abbildung 14). Der Mangangehalt nahm hier, verglichen mit Leber und Niere, deutlich langsamer zu und die Gehalte der Gruppe Mn-16 lagen noch einmal signifikant über denen von Gruppe Mn-08. Dieses protrahierte Ansteigen der Gewebemangankonzentration bei zunehmender Mangansupplementation spiegelt sich auch in der Regressionsfunktion (Abbildung 15) wider, in welcher der Quadratkoeffizient gegenüber dem linearen klein ist. Damit ist die Kurve von Mangel bis 16 mg Mn/kg Futter annähernd linear. Somit wird ein Sättigungseffekt erst im Bereich zwischen Mn-16 und Mn-32 erkennbar. Der Effekt darf

zwar nicht über das untersuchte Intervall hinaus gedeutet werden, jedoch ist bei Supplementen oberhalb von 32 mg Mn/kg Futter zunächst nicht mit deutlichen Effekten zu rechnen, solange nicht der toxische Bereich erreicht wird, in welchem die Homöostase nicht mehr ausreichend funktioniert. Dies ist mit den vorliegenden Ergebnissen jedoch nicht zu beweisen und wäre somit Spekulation.

Während sich im Falle des Herzmuskels die gefundenen Konzentrationen an Gewebemangan bei niedriger Versorgung mit den Befunden von BURCH et al. (1975) decken, fanden diese Autoren bei hoher Versorgung (22 mg Mn/kg Diät) lediglich Konzentrationen, die um etwa 60% unter denen dieser Studie lagen.

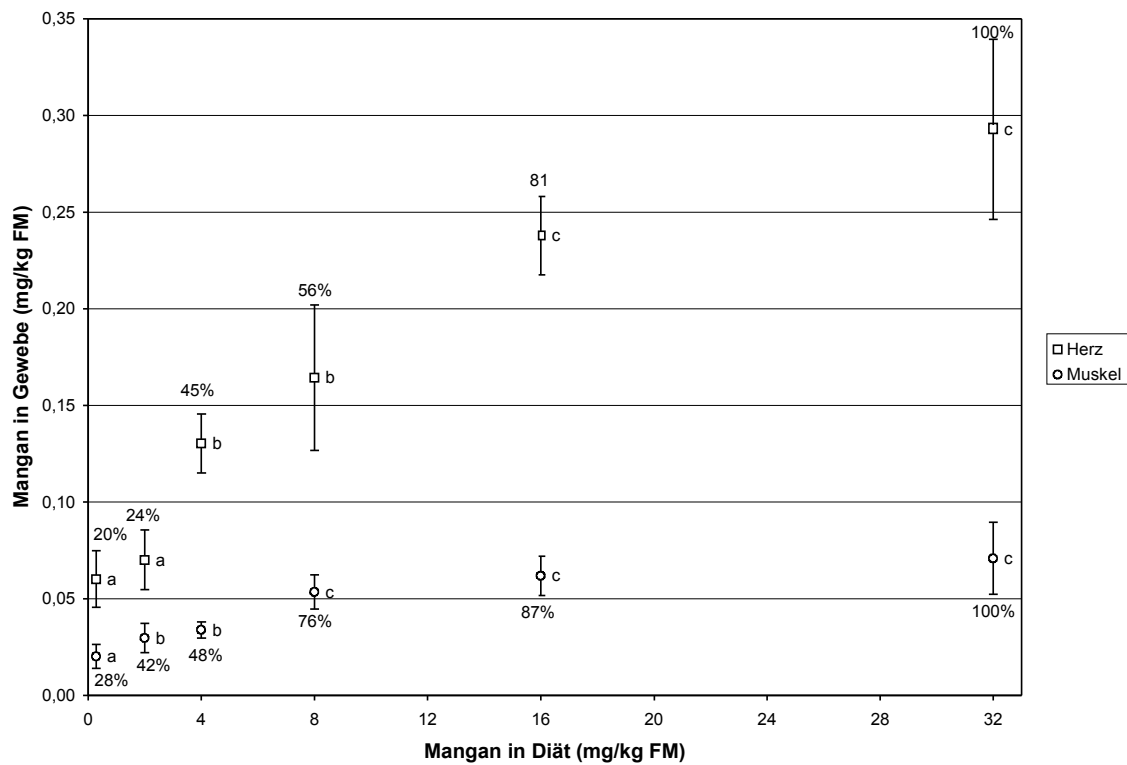


Abbildung 14: Mangangehalte in Herz und Skelettmuskel der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Zufuhr

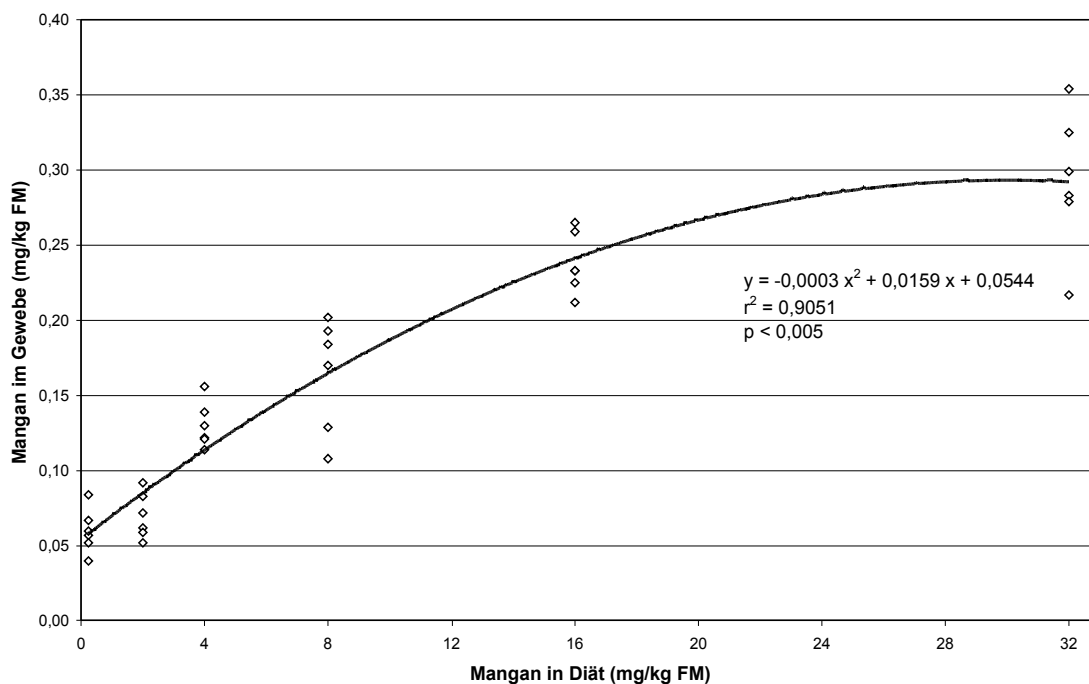


Abbildung 15: Abhängigkeit des Mangangehaltes im Herzen von der oralen Zufuhr

Der Skelettmuskel war mit einem Maximum von 71 $\mu\text{g Mn/kg FM}$ das Organ mit den mit Abstand niedrigsten Mangangehalten. Die Tiere der Gruppen unterhalb von Mn-08 unterschritten die Bestimmungsgrenze des GFAAS. Da die Werte dieser Gruppen sich jedoch ähnlich denen in den anderen Organen verändern und die Standardabweichungen in diesen Gruppen erstaunlich niedrig waren, wurden auch diese Werte mit ausgewertet.

In Gruppe Mn-00 betrug der gefundene Mangangehalt 28% des Mittelwertes von Gruppe Mn-32. Bereits in Gruppe Mn-08 wurden 76% dieses Maximalwertes erreicht. Dem entsprechend flacht auch die Regressionskurve (Abbildung 16) oberhalb von Mn-04 ab. BURCH et al. (1975) erhielten mit Skelettmuskel mittels Neutronenaktivierungsanalyse Werte die um etwa 50% über den hier ermittelten lagen.

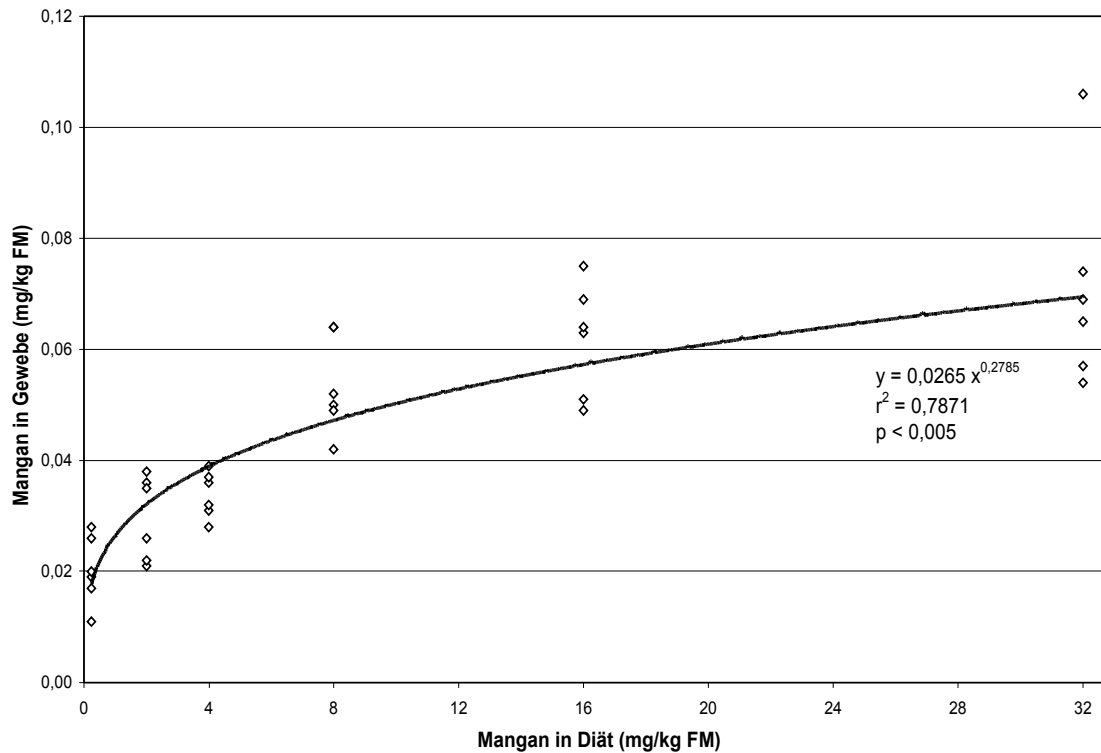


Abbildung 16: Abhängigkeit des Mangangehaltes im Skelettmuskel (*Musculus longissimus*) von der oralen Manganzufuhr

Im Lungengewebe betrug der in der Mangelgruppe Mn-00 gefundene Mangangehalt 29% des Wertes der Gruppe Mn-32 (Abbildung 17, Abbildung 18). In Gruppe Mn-16, die sich nicht mehr signifikant von Mn-32 unterschied, wurden 83% des maximalen Wertes erreicht. Bei den Werten der Gruppen Mn-08 und Mn-16 waren die Standardabweichungen höher als in den übrigen Gruppen. Grund für diese Variation könnte ein starker tierindividueller Einfluß auf die Verteilung des Mangans im Körper der Tiere an der Schwelle zur ausreichenden Versorgung sein. Die Werte lagen nur leicht unter jenen von BURCH et al. (1975).

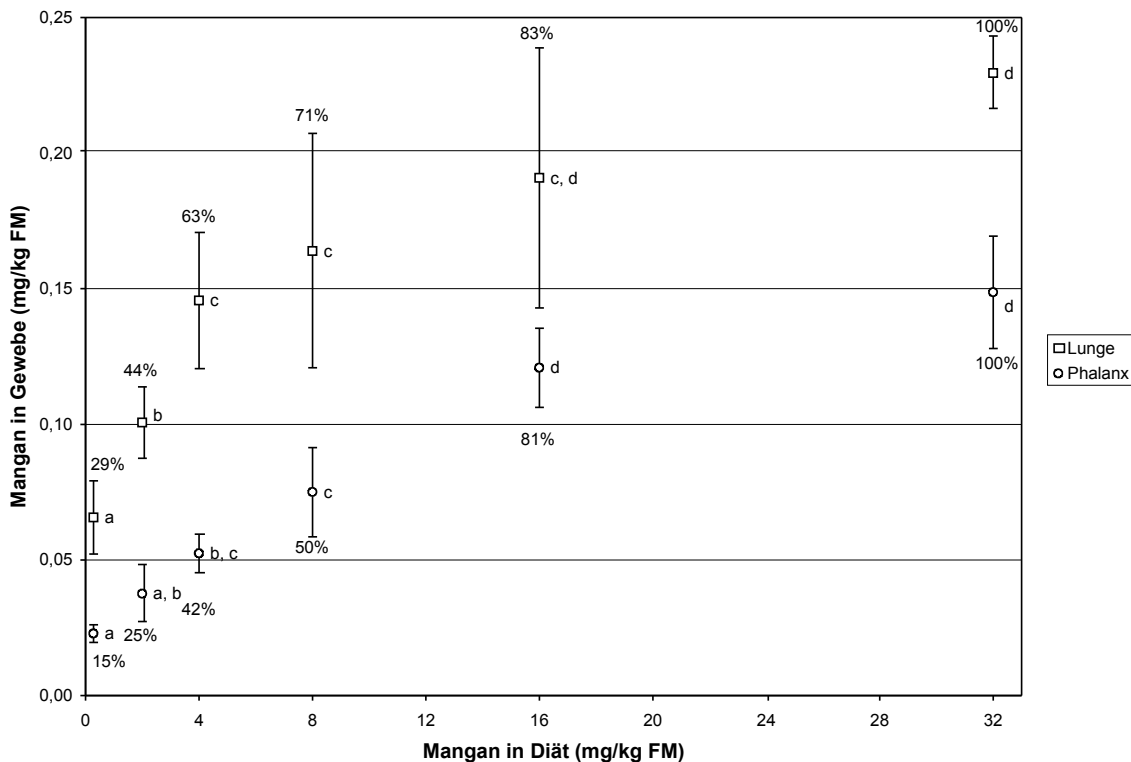


Abbildung 17: Mangangehalte in Lunge und Knochen der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

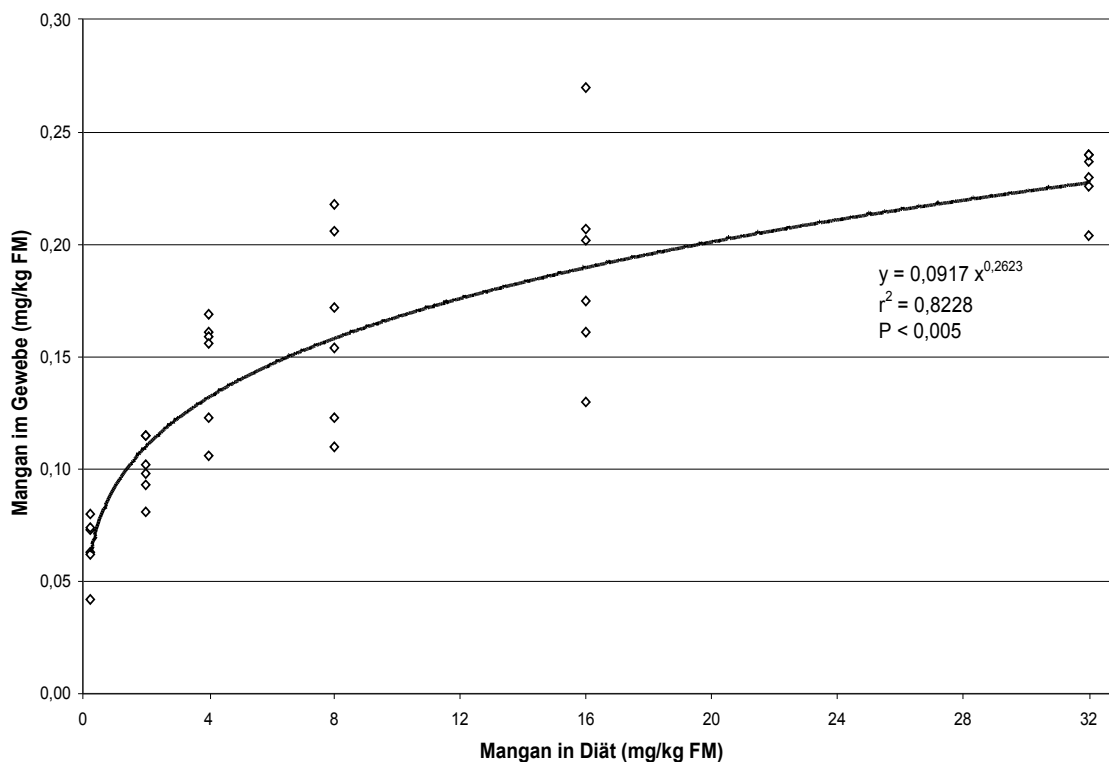


Abbildung 18: Abhängigkeit des Mangangehaltes in der Lunge von der oralen Manganzufuhr

Im Knochen der Phalanx prox. wurden zwischen 0,023 und 0,149 mg Mn/kg FM vorgefunden (Abbildung 17). Das Tier aus Käfig Nr. 12 (Gruppe Mn-02) wurde als analytischer Ausreißer interpretiert und von der Auswertung ausgeschlossen. Im Gegensatz zu den anderen Organen konnte bei diesem Ausreißer kein zweiter Probenaufschluss zur Verifizierung der Ergebnisse angefertigt werden, da von jedem Tier lediglich eine Phalanx prox. zur Verfügung stand und diese bereits im ersten Aufschluss komplett verascht wurde. Die Differenz zwischen maximalem und minimalem Gruppenmittelwert umfasst eine Spanne ähnlich der Leber. Auch hier sinkt der Wert bis auf 15% in der Mangelgruppe Mn-00 verglichen mit Gruppe Mn-32 ab. Der Anstieg erfolgte hier relativ langsam, so wurde in Gruppe Mn-08 lediglich die Hälfte des maximalen Wertes erreicht, was wiederum mit den Verhältnissen im Herz vergleichbar ist. Auch die Regression zeigt diese Ähnlichkeit sehr deutlich. Die Kurve ist bis zur Gruppe Mn-08 annähernd linear (Abbildung 19).

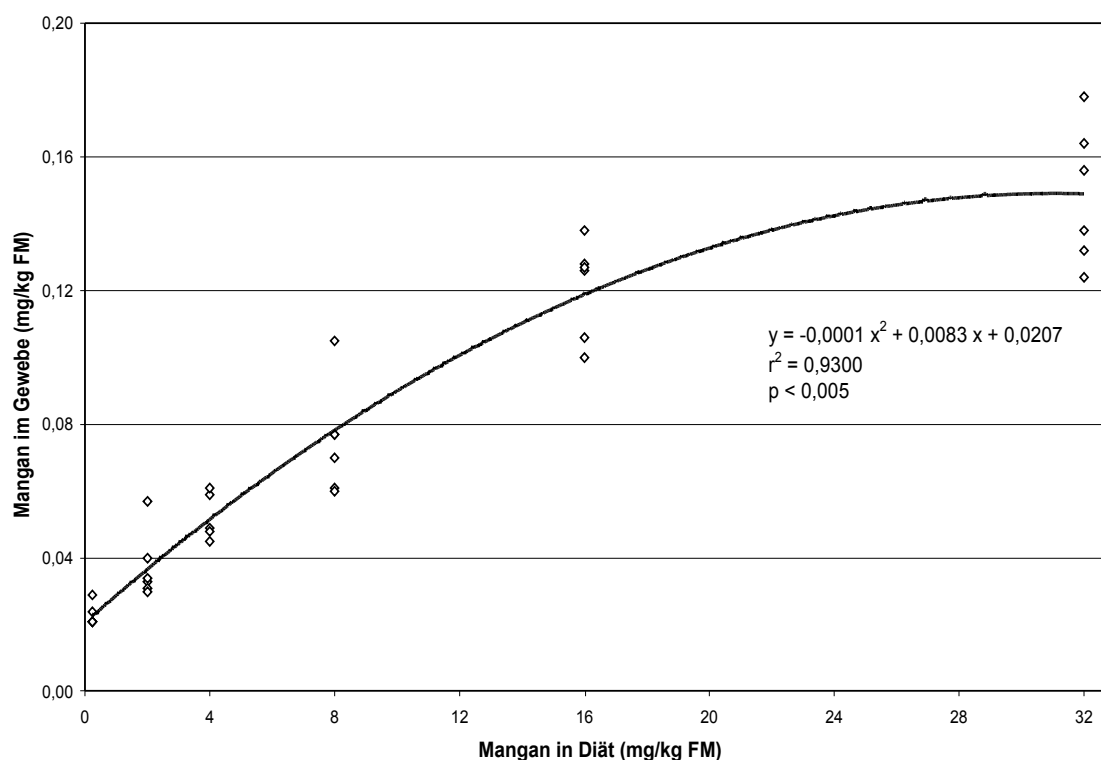


Abbildung 19: Abhängigkeit des Mangangehalts in der Phalanx prox. von der oralen Zufuhr

Die im Pankreas erreichten Werte reichen mit maximal 1,46 mg/kg FM im Gruppenmittel fast an die Werte der Leber heran. Die Werte in den unteren Gruppen steigen mit erhöhter Zufuhr sehr deutlich an und erreichen in Gruppe Mn-08 bereits 88% der maximal erreichten Konzentration (Abbildung 20 und 21). Damit bleibt die weitere Vervierfachung der Manganzufuhr von Mn-08 bis Gruppe Mn-32 so gut wie wirkungslos. Der Wert in der Mangelgruppe Mn-00 betrug lediglich 28% der maximalen Konzentration von Gruppe Mn-32. Bei der Regressionsanalyse ($r^2 = 0,8621$) waren die Residuen allerdings nicht normalverteilt, womit eine der Voraussetzungen der Berechnung des

Korrelationskoeffizienten nach Spearman nicht erfüllt war. Um die Regression dennoch auswerten zu können, wurde die Robustheit des Korrelationskoeffizienten in Bezug auf die Normalverteilung angenommen und in die Irrtumswahrscheinlichkeit ein Sicherheitsfaktor von 100 eingerechnet. BURCH et al. (1975) fanden bei hoher Versorgung (22 mg Mn/kg Diät) um etwa 25% niedrigere Gehalte, bei niedriger Versorgung jedoch eher höhere Werte.

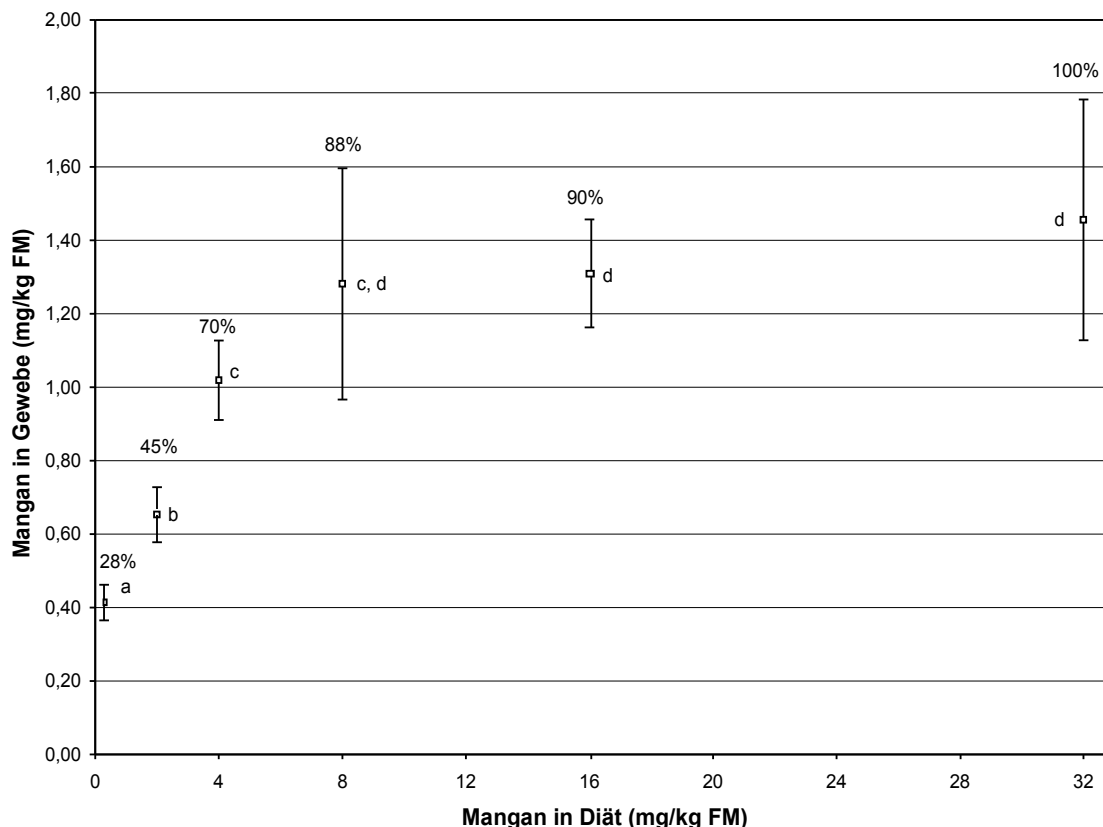


Abbildung 20: Mangangehalte im Pankreas der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

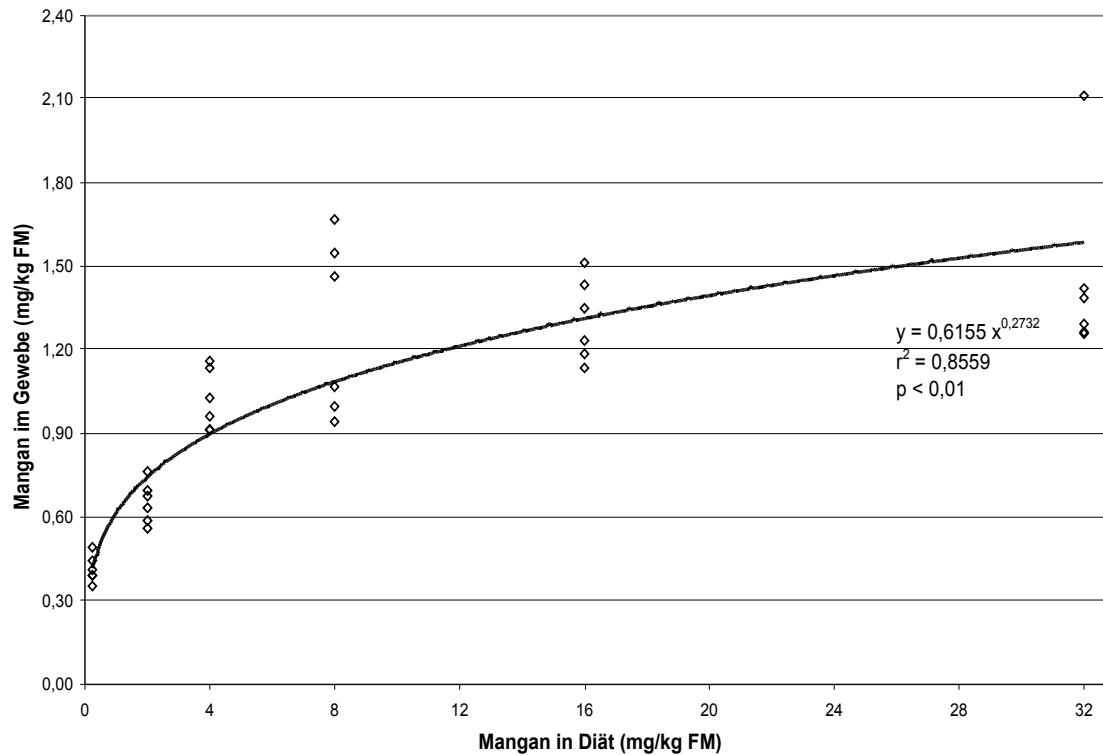


Abbildung 21: Abhängigkeit des Mangangehaltes im Pankreas von der oralen Zufuhr

Die Bestimmung des Mangangehaltes der Galle wurde nach Durchführung von Probemessungen zur Ermittlung der optimalen Verdünnung abgebrochen. Für diesen Verdauungssaft wurde zwar ein deutlicher Einfluss der Manganversorgung erwartet, welcher jedoch schon bei der Messung dieser wenigen Stichproben deutlich durch individuelle Schwankungen überlagert wurde. Ursache für diese hohen Schwankungen könnte die überwiegende Manganausscheidung in die Galle in den Morgenstunden sein (KIRCHGESSNER et al. 1990). Die Tiere wurden zwischen 8:00 und 13:00 Uhr geschlachtet und erhielten am Schlachttag kein Futter mehr. Damit fand die Schlachtung in der Zeit der stark abnehmenden Manganausscheidung statt und zugleich in der gewohnten Fütterungszeit. Damit ist in diesem Zeitraum mit einem gesteigerten Gallefluss zu rechnen, was zusätzlich zu einer Abnahme der Mangankonzentration geführt haben könnte.

Die Bestimmung des Mangangehaltes im Vollblut stellte aufgrund der niedrigen Konzentrationen erhebliche Anforderungen an die Probenaufarbeitung. Aus dieser Problematik resultieren zahlreiche Derivatisierungen in der Probenaufarbeitung (z.B. CLEGG et al. (1986), HAMS und FABRI (1988), PALLAUF et al. (1993), MATSUDA et al. (1994), EKMEKCIOGLU et al. (2001)). Die einfachste, und damit potentiell fehlerärmste Möglichkeit ist die direkte Messung im unverdünnten Vollblut (CLEGG et al. 1986). Diese direkte Messung wurde mit Schweineblut im institutseigenen GFAAS getestet. Es traten hierbei allerdings Probleme auf, die diese Art der Messung unpraktikabel machten. Unverdünntes Schweineblut haftete aufgrund seiner hoher Viskosität innen und aus-

sen an der Pipettenspitze des Autosamplers an. Auch nach dem Ausspülen der Spitze waren noch Blutreste erkennbar. Alleine damit war eine hinreichende Präzision nicht mehr sichergestellt. In der Trocknungsphase schäumte der in der Küvette befindliche Blutstropfen auf und verkohlte wabig. Die verkohlten Rückstände behinderten den Strahlengang und verbrannten auch im Reinigungszyklus nur unvollständig, eine manuelle mechanische Reinigung der Küvette war schon nach wenigen Zyklen unumgänglich. Wurde das Probenmaterial hingegen verdünnt, um die Viskosität zu senken und eine Hämolyse herbeizuführen, wurde schnell die Bestimmungsgrenze unterschritten. Somit wurde auch für das Blut das Verfahren der Nassveraschung erforderlich. Infolge des geringen zur Verfügung stehenden Probevolumens erfolgte der Aufschluss in Überdruckgefäßen im Mikrowellenofen. Da der erhaltene Aufschluss zu 50% aus konzentrierter Schwefelsäure bestand, welche in dieser Konzentration die Küvetten stark angriff, musste die Probe entweder verdünnt oder abgeraucht werden. Da eine Verdünnung wieder zum Unterschreiten der Bestimmungsgrenze geführt hätte, wurden die Proben durch Hitze im geöffneten Aufschlussgefäß bis zur Trockenheit eingedampft, um sie dann wieder in verdünnter Salpetersäure zu lösen. Durch dieses Vorgehen konnte eine vollständig mineralisierte Probe im Volumen-Verhältnis 1:1 zur Originalprobe erhalten werden. Von der Erfassung des Mangangehaltes im Serum oder Plasma wurde abgesehen. Da das Mangan im Blut hauptsächlich in den Erythrozyten lokalisiert ist (MILNE et al. 1990), ist die Aussagekraft einer solchen Bestimmung nur bei absolut hämolysefreiem Blut gegeben. Absolute Hämolysefreiheit konnte jedoch bei der an den Ferkeln praktizierten Blutentnahmetechnik nicht sichergestellt werden.

Die erhaltenen Messwerte zu Versuchsbeginn wiesen zwar keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf (Abbildung 22), jedoch sieht die Verteilung der Ergebnisse in den einzelnen Gruppen inhomogen aus. Zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme wurde sogar in der Mangelgruppe Mn-00 ein signifikant höherer Gehalt als in den beiden hochversorgten Gruppen gefunden (Mn-16 und Mn-32). Für dieses Phänomen gibt es zwei mögliche Erklärungen. Zum einen ist davon auszugehen, dass die Mn-Versorgung der Ferkel beim Absetzen von der Sau nicht einheitlich war und zudem von der Menge Starterfutter abhing, die das Einzeltier aufgenommen hat. Des Weiteren wurde im Erzeugerbetrieb mit zwei verschiedenen Prästartern gearbeitet, wodurch nicht mit Sicherheit angenommen werden kann, dass alle Ferkel mit einer einheitlichen Mischung dieser beiden Futter angefütert wurde.

Dieser Effekt ging bis zur dritten Blutentnahme deutlich zurück und war zu Versuchsende (Abbildung 23) schließlich nicht mehr nachweisbar. Auch in den Blutproben der hoch versorgten Gruppen ging der Mangangehalt scheinbar leicht zurück, was aber infolge der hohen Standardabweichungen nicht einmal als Tendenz bezeichnet werden kann. Am Ende des Versuches spiegelt sich die Abstufung der Manganversorgung in den Blutergebnissen deutlich wieder. Die Rückgänge sind aber bei

weitem nicht so stark wie in den inneren Organen. In der Mangelgruppe ging der Mangangehalt lediglich um 48% gegenüber Gruppe Mn-32 zurück. Auch LEIBHOLZ et al. (1972) untersuchten unter vergleichbaren Bedingungen den Mn-Gehalt im Vollblut von Schweinen. Sie konnten jedoch nach einem 6 wöchigen Experiment noch keinerlei Veränderung feststellen.

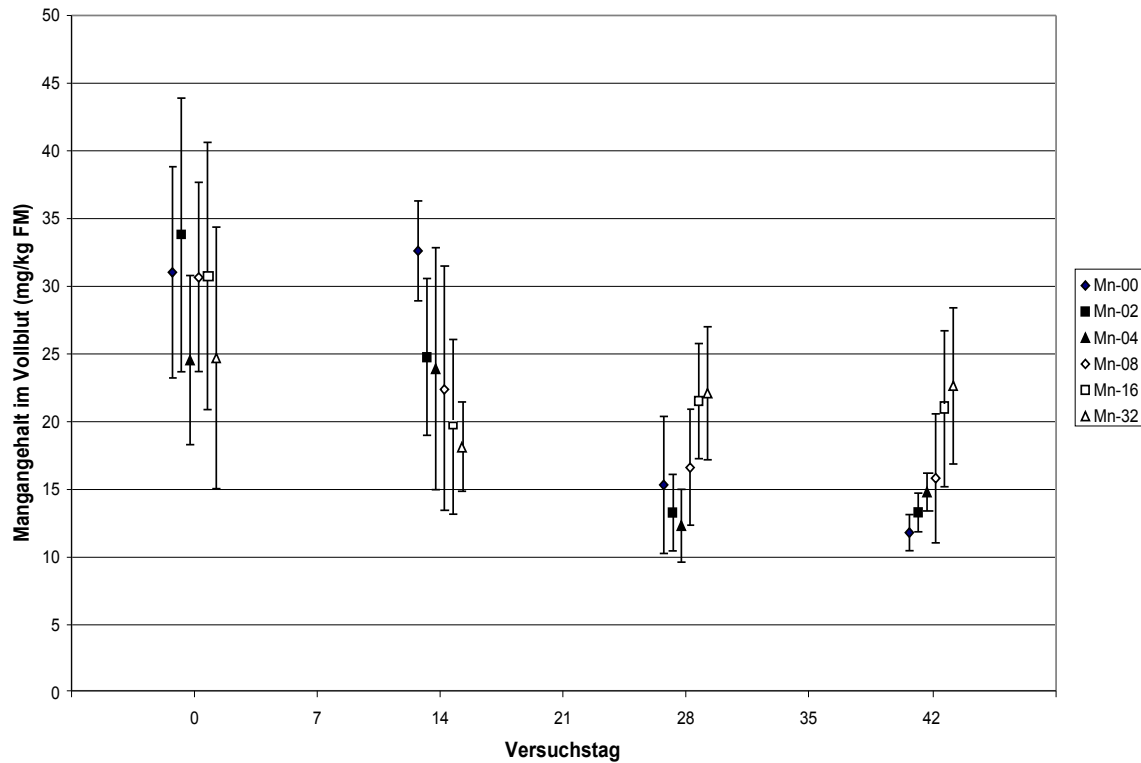


Abbildung 22: Mangan im Vollblut in Abhängigkeit von der Versuchsdauer und der Manganzulage

Die Darstellung der einzelnen Gruppenmittel eines Entnahmeterrmins erfolgte zur besseren Übersicht gestaffelt.

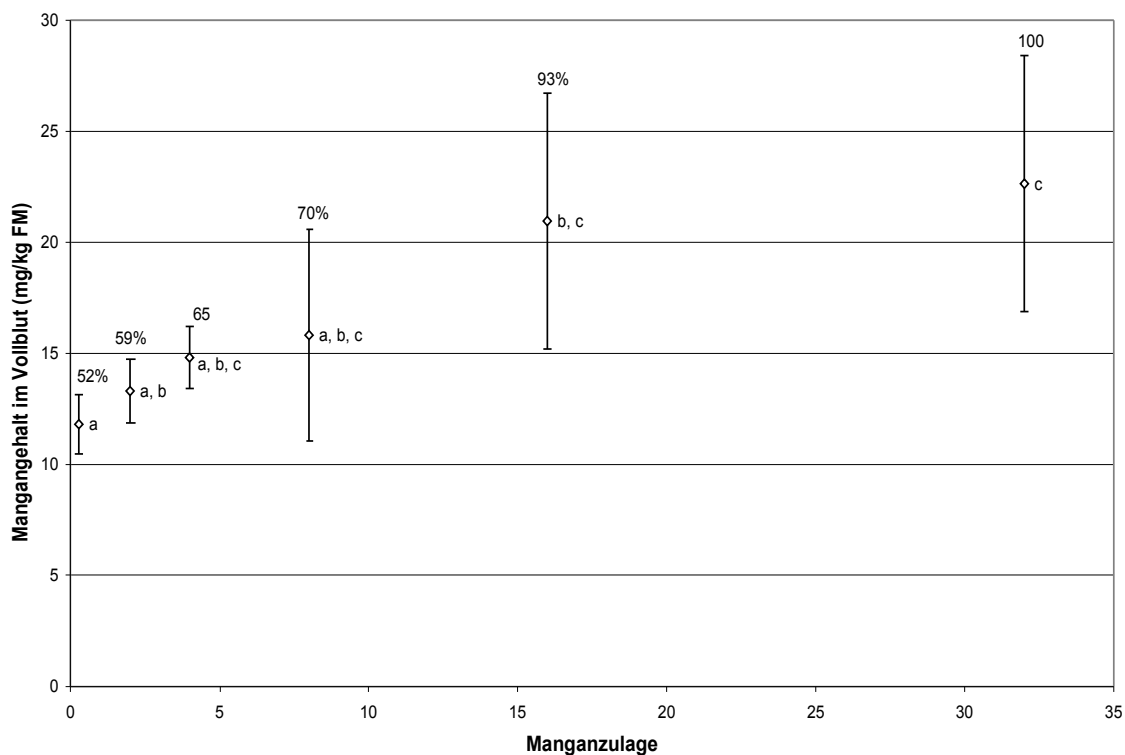


Abbildung 23: Mangangehalte im Vollblut bei der Entnahme zu Versuchsende in Abhängigkeit von der Manganzulage

6.6.1 Zusammenfassung der Einflüsse der Manganzufuhr auf Mangangehalte in den Organen

Die gefundenen Mn-Gehalte dieser Studie wurden in Tabelle 43 denen älterer Studien gegenübergestellt. Im großen und ganzen wurden die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse bestätigt. Dies ist um so beachtlicher, wenn man den Zeitraum von 55 Jahren, welcher zwischen erstem und letztem Ergebnis liegt, bedenkt und welchen Fortschritt die Analytik in diesem Zeitraum gemacht hat und wie sich das durchschnittliche „Schwein“ durch Selektion auf fettärmere Genotypen verändert hat. Im Gegensatz zu den zitierten Ergebnissen lassen die Daten dieser Arbeit aufgrund der sechsfachen Abstufung eine wesentlich genauere Beschreibung der Auswirkung einer marginalen Mn-Versorgung auf die Gewebe-Mn-Spiegel zu. Erst dadurch ist eine präzise Ableitung von Bedarfswerten möglich.

Tabelle 43: Gegenüberstellung der Ergebnisse dieser Arbeit mit denen älterer Studien zum Einfluß des Diät-Mangans (mg/kg Diät) auf die Mangankonzentrationen in Organen (mg/kg FM) beim Schwein

		<i>Ergebnisse dieser Arbeit</i>	<i>BURCH et al. (1975)</i>	<i>LEIBHOLZ et al. (1972)¹</i>	<i>PLUMLEE et al. (1956)²¹</i>	<i>GRUMMER et al. (1950)²¹</i>
Futter	min.	0,3	0,58	0,5	1	12
	max.	32	22	40,5	40	172
	nGruppen ²	6	2	2 ³	2 ³	4
Leber	min.	0,279 ± 0,069	0,75 ± 0,22	2,83	0,79	2,46
	max.	2,028 ± 0,378	3,06 ± 0,13	3,58	3,17	2,88
Niere	min.	0,259 ± 0,022	0,40 ± 0,05	0,48	0,66	1,52
	max.	1,139 ± 0,083	0,94 ± 0,19	1,34	1,34	1,63
Lunge	min.	0,066 ± 0,013	0,11 ± 0,01			
	max.	0,230 ± 0,014	0,17 ± 0,01			
Herz	min.	0,060 ± 0,015	0,06 ± 0,03		0,12	
	max.	0,293 ± 0,047	0,09 ± 0,01		0,31	
Muskel	min.	0,020 ± 0,006	0,07 ± 0,01	0,10		
	max.	0,071 ± 0,019	0,11 ± 0,01	0,16		
Phalanx	min.	0,023 ± 0,003		0,15	0,45	
	max.	0,149 ± 0,021		0,39	0,56	
Pankreas	min.	0,414 ± 0,049	0,89 ± 0,04			
	max.	1,456 ± 0,328	1,07 ± 0,27			
Blut	min.	0,012 ± 0,001		0,01		
	max.	0,023 ± 0,005		0,01		

¹ im Originaltext bezogen auf Trockenmasse. Die Werte hier wurden unter Annahme von Trockenmassegehalten von 28% in der Leber, 22% in der Niere, 32% im Muskel und 20% im Blut basieren auf SOUCI et al. 2000 sowie 34% im Knochen basierend auf ZACHARIAS, 1997 in Frischmassegehalte umgerechnet

² Anzahl der Manganstufen

³ Es wurden mehrere Experimente, mit jeweils 2 Gruppen durchgeführt

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Mangankonzentrationen aller untersuchten Organe deutlich, und in ähnlicher Weise durch die abgestufte Manganversorgung der Ferkel beeinflusst wurden. Obwohl sich die Werte zwischen den verschiedenen Organen innerhalb einer Gruppe maximal um den Faktor 27 unterschieden (Muskel zu Lunge in der Gruppe Mn-32), ähnelten sich die Regressionskurven von Mangankonzentration über Manganzufuhr, abgesehen von der Skalierung der Abszisse, deutlich. In den niederen Gruppen war die Steigerung der Mangangehalte deutlicher als in den hohen Gruppen. In keinem der Organe war ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen Mn-16 und Mn-32 nachweisbar (Tabelle 44), obwohl die oral zugeführte Dosis verdoppelt wurde. Dieser Effekt deutet auf eine Homöostase hin, welche den Mangangehalt im Körper oberhalb eines Sollwertes begrenzt. Wie überall in biologischen Systemen ist ein solcher Wert aber keine abrupte Schwelle, sondern ein flacher Übergang in einer Kurve, welche sich der maximalen Gewebekonzentration asymptotisch annähert.

Die Beobachtung, dass auch die Regressionskurve der Leber, zwischen Mn-08 und Mn-16 abflacht, deckt nicht die Vorstellung, dass die Leber die Rolle eines Speicherorgans für Mn innehat. Bei einem klassischen Speicherorgan wäre zu erwarten gewesen, dass die Mangankonzentration hier noch weiter steigt, nachdem die anderen Gewebe „abgesättigt“ sind und so ein zentraler, leicht zu mobilisierender Manganpool gebildet wird. Die Ergebnisse dieses Versuches lassen jedoch keinen Rückschluss auf die Verhältnisse bei deutlicher Überversorgung zu. Ob unter solchen Bedingungen in der Leber doch vermehrt Reserven gebildet werden können, kann mit den hier ermittelten Ergebnissen nicht ausgeschlossen werden. Nach den Ergebnissen von GRUMMER et al. (1950) ist jedoch nicht von weiter steigenden Gehalten auszugehen.

Die vergleichende Darstellung (Tabelle 44) hebt hervor, dass sich die Veränderungen im Vollblut von den Mangangehalten in den Geweben unterscheiden. Lediglich die Gruppen Mn-00 und Mn-02 unterschieden sich signifikant von den Gruppen Mn-16 und Mn-32. Eine Differenzierung der Ergebnisse im Übergangsbereich von adäquater Versorgung zum Mangel ist nicht möglich. Folglich eignet sich die Untersuchung des Mangangehaltes im Vollblut lediglich zur Diagnose eines drastischen Manganmangels oder zur Festigung der klinischen Diagnose „Perosis“. Kurz- und mittelfristige bzw. moderate Mn-Unterversorgungen lassen sich damit nicht feststellen.

Eine Frage die sich bei der Betrachtung der großen Spannweite der gefundenen Werte in verschiedenen Geweben bei gleicher Manganzufuhr aufdrängt, ist der Grund für diese Konzentrationsunterschiede. Dafür gibt es nur zwei plausible Möglichkeiten. Zum einen könnte sich der jeweilige Manganspiegel durch regulierte Manganaufnahme in einzelnen Zellarten einstellen. Dazu würde ein Transportprotein benötigt (noch nicht beschrieben) welches entweder durch Expression oder Aktivierung bzw. Inaktivierung reguliert wird. Alternativ, und dies erscheint wahrscheinlicher, könnten diese Differenzen durch unterschiedliche Affinitäten von zellulären Proteinen zu Mangan bedingt sein.

Tabelle 44: Übersicht über signifikante Gruppenunterschiede in den untersuchten Organen der Ferkel ($p < 0,05$)

Die grau hinterlegte Fläche kennzeichnet den Bereich in dem die Reduzierung der Manganzufuhr noch zu keiner signifikanten Veränderung des Parameters geführt hat.

Gruppe	Leber	Niere	Lunge	Herz	Muskel	Phalanx	Pankreas	Blut
0	a	a	a	a	a	a	a	a
2	b	b	b	a	b	a, b	b	a, b
4	c	c	c	b	b	b, c	c	b, c
8	d	c, d	c	b	c	c	c, d	a, b, c
16	d	d	c, d	c	c	d	d	c
32	d	d	d	c	c	d	d	c

In Tabelle 45 sind die Ergebnisse der Regressionsanalysen noch einmal zusammengefasst. Die größte Bestimmtheit trat bei der Knochenprobe auf, gefolgt von Herz, Niere und Leber. Von daher wäre die Bestimmung des Mangans in der Knochenasche, wie auch schon von FLY et al. (1989) festgestellt, der optimale Parameter für den Manganversorgungsstatus. Nimmt man jedoch weitere Aspekte, wie Probenentnahme, Probenaufbereitung und Analytik in die Betrachtung auf, so sind Leber und Niere doch die besser geeigneten Organe. Leber und Niere sind einfach zu entnehmende Organe und werden routinemäßig im Schlachtprozess zur Rückstandsanalytik entnommen. Beide Organe sind durch ihre Gewebestruktur einfach zu verarbeiten und gut veraschbar. Durch ihre hohen Mangangehalte stellen sie nicht allzu hohe Anforderungen an die Laborausstattung und sind damit auch in einem Routinelaborbetrieb analysierbar.

Tabelle 45: Übersicht über die Regressionsanalytischen Ergebnisse in den untersuchten Organen

<i>Gewebe</i>	<i>Typ der Regression</i>	<i>Bestimmtheitsmaß</i>
Leber	potentiell	0,927
Niere	potentiell	0,920
Lunge	potentiell	0,823
Herz	quadratisch	0,905
Muskel	potentiell	0,786
Phalanx	quadratisch	0,930
Pankreas	potentiell	0,856

6.6.2 Ableitung von Referenzwerten für Mangangehalt in Leber und Niere

Zwischen Gruppe Mn-16 und Mn-32 unterschieden sich die Mangankonzentrationen von Leber und Niere nicht. Daher werden beide Gruppen im folgenden gepoolt und als Referenzgruppe betrachtet. Somit ergibt sich für die Leber ein mittlerer Gehalt von $1,98 \pm 0,31$ mg Mn/kg FM. Wird als Referenzbereich der Mittelwert der Referenzgruppe ± 2 SD angenommen, ergibt sich daraus ein Referenzbereich für Mangan in der Leber von 1,36 bis 2,61 mg Mn/kg FM. Unter dieser Annahme liegen alle Individuen der Gruppen Mn-00, Mn-02 und Mn-04 unterhalb des Referenzbereiches, alle Tiere ab Mn-08 aufwärts hingegen im Referenzbereich.

Für die Niere beträgt der Mittelwert der Referenzgruppe $1,10 \pm 0,08$ mg Mn/kg FM. Damit ergibt sich ein Referenzbereich von 0,93 bis 1,26 mg Mn/kg FM. Alle Tiere der Gruppen Mn-00 bis Mn-04 und zwei Individuen der Gruppe Mn-08 unterschreiten diesen Referenzbereich.

Um diesen Referenzbereich auf die gesamte Schweinepopulation ausweiten zu können, sind vergleichende Studien mit verschiedenen Rassen erforderlich. Es sind jedoch keine Hinweise bekannt, die zu der Annahme Anlass geben, dass sich die einzelnen Rassen in Manganverwertung und Bedarf deutlich unterscheiden.

6.7 Knorpelzusammensetzung

Im Vergleich zu den drastischen Veränderungen bei den Organmanganspiegeln und den Enzymaktivitäten waren die Knorpelmetaboliten Uronsäure und DMB-reaktive Substanz mit Rückgängen von etwa 20% nur schwach beeinflusst. Allerdings gingen diese Parameter in anderen Studien, z.B. bei Geflügel mit klinisch manifester Perosis auch nur um etwa 50% zurück (LEACH 1967). Somit können hier, ohne klinische Symptomatik, auch keine deutlicheren Veränderungen dieser Parameter erwartet werden.

Der Uronsäuregehalt ging auf minimal 82% (Gruppe Mn-00) gegenüber dem Maximalwert (Gruppe Mn-16) zurück (Abbildung 24).

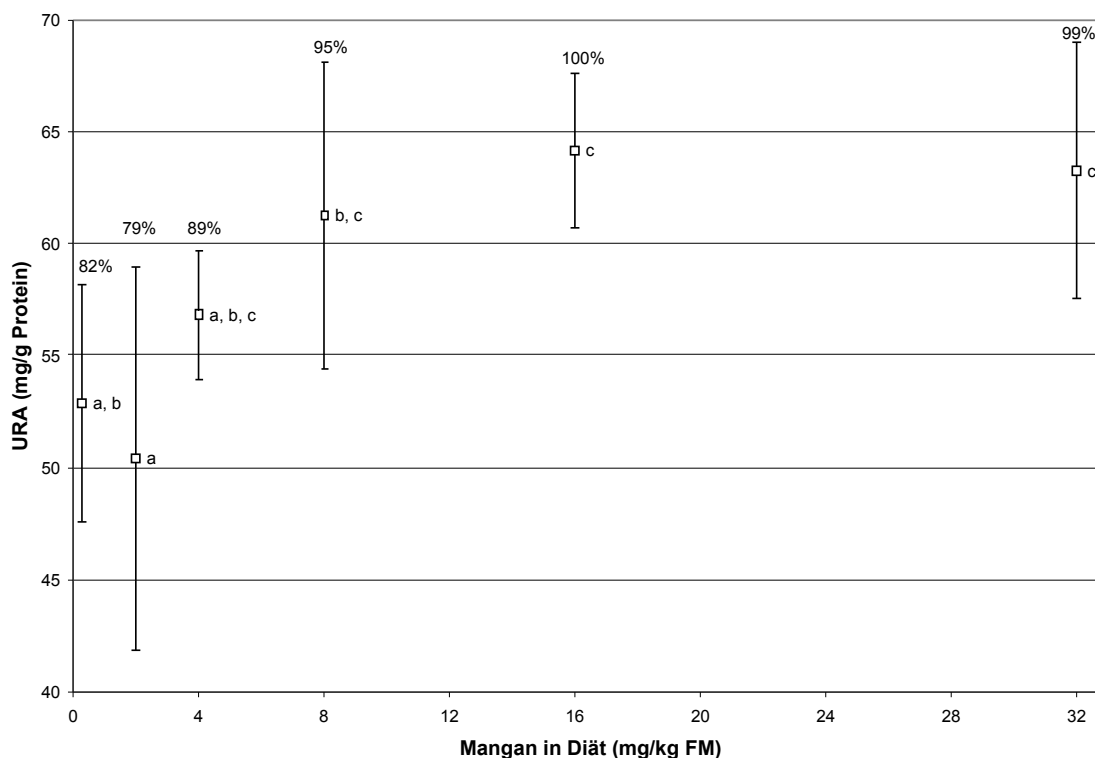


Abbildung 24: Uronsäuregehalt im Gelenkknorpel der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

Die Werte, die mit der DMB-Farbreaktion (Abbildung 25) bestimmt wurden, verhielten sich parallel zu den Uronsäurewerten. Auch hier sank der Mittelwert auf 79% in Gruppe Mn-00 gegenüber dem Maximalwert, der jedoch erst in Gruppe Mn-32 erreicht wurde, ab. In vergleichbaren Studien mit Geflügel gingen ebenfalls beide Parameter gleichzeitig zurück (LEACH 1967).

Diese Ergebnisse deuten auf eine Veränderung des Knorpelstoffwechsels hin, obwohl noch keine Knochenverkrümmungen auftraten. Anhand dieser Beobachtung müsste aber mit dem Auftreten klinischer Veränderungen am Bewegungsapparat in den unteren zwei bis drei Gruppen bei verlängerter Versuchsdauer gerechnet werden.

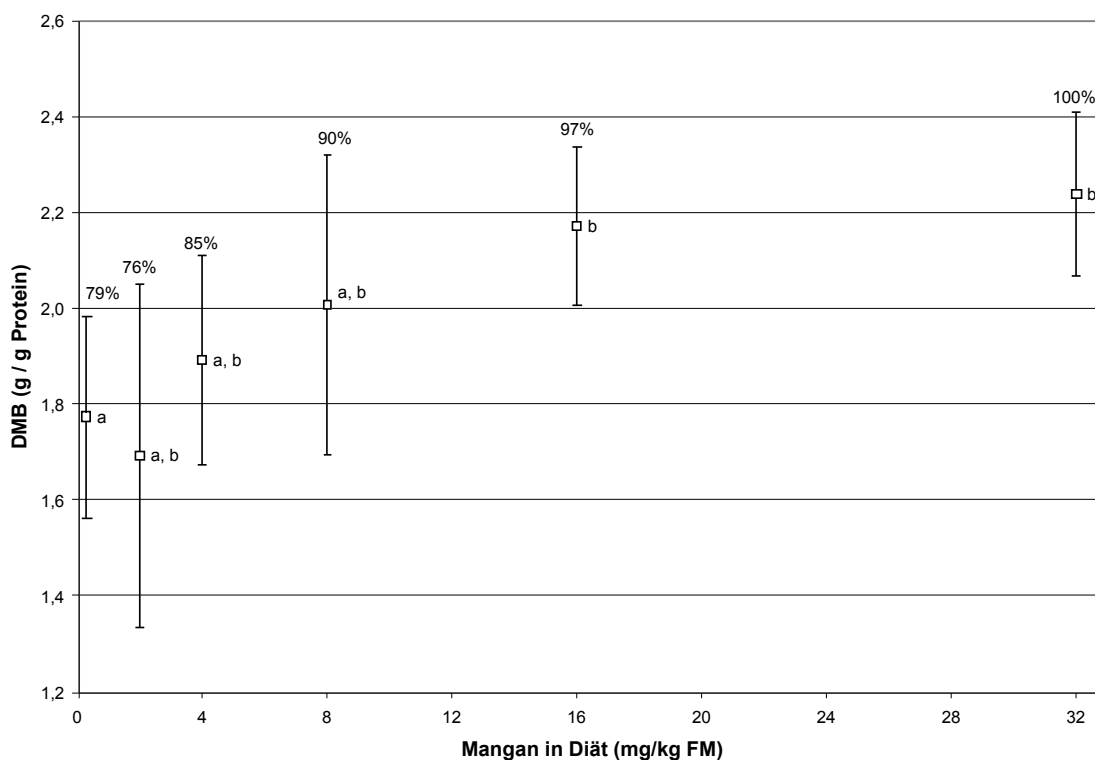


Abbildung 25: Dimethylenblaureaktive Substanz im Gelenkknorpel der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

Im klinischen Manganmangel sind die sekundären Veränderungen an den Knochen, die durch Veränderungen in der Knorpelzusammensetzung bedingt sind, ein Kardinalsymptom der Erkrankung. Um so erstaunlicher ist die Tatsache, dass die Veränderungen am Knorpel, trotz der teilweise sehr niedrigen Versorgung, so gering sind. Da die Versuchstiere bei Eintritt in den Versuch gut mit Mangan versorgt waren, erstreckte sich die Phase der „Auswaschung“ und „Verdünnung“ der vorhandenen Manganreserven vermutlich über die erste Hälfte bis zu den ersten zwei Dritteln des Versuchszeitraumes (vergleiche Blutbefunde). Der Gelenkknorpel wird dabei, aufgrund seines eher trägen Stoffwechsels und geringer Durchblutung, im Vergleich langsamer als andere Gewebe an Man-

gan verarmt sein. Das Endprodukt der Galaktosyltransferasen, das Chondroitinsulfat hat als Gerüstsubstanz eine hohe biologische Halbwertszeit. Somit fällt die Gewebekonzentration erst langsam ab, wenn die Neusynthese aufgrund von Manganmangel zum Erliegen kommt.

Dem entgegen stehen aber die intensiven Umbauprozesse im wachsenden Gelenkknorpel. Hier wird an der Oberfläche ständig neue Knorpelsubstanz gebildet, welche in der Mineralisierungszone teilweise wieder abgebaut wird. Daher werden die Knochenverkrümmungen ausschließlich bei wachsenden Tieren beobachtet. Bei Ratten manifestierten sich diese Knochenverkrümmungen lediglich dann, wenn die Tiere von einem manganarm ernährten Muttertier geboren und gesäugt wurden (KIRCHGESSNER und HEISEKE 1977). Folgen eines lang anhaltenden Manganmangels beim ausgewachsenen Tier müssten im Gegensatz dazu arthrotische Gelenkschäden sein. Ergebnisse die auf die Existenz von manganmangelbedingter Arthrose beim Adultus hinweisen liegen bis heute jedoch nicht vor. Grund könnte unter anderem sein, dass die Bedeutung des Mangans in der Humannahrung bislang wenig Beachtung findet und die Lebenszeit gewöhnlicher Versuchstiere nicht zur Ausbildung solcher Veränderungen ausreichen dürfte.

Die angewandten Bestimmungsmethoden für Uronsäure und die sulfatierten Glykosaminoglykane sind etablierte, einfach durchzuführende und kostengünstige Verfahren. Während die DMB-Farb-reaktion auch auf im Knorpel vorhandenes Keratansulfat anspricht, wird Keratansulfat durch die Uronsäurebestimmung nicht erfasst, da hier anstelle der Glucuronsäure Galactose vorkommt (PETRIDES 1997). Präzisere Aussagen über die Zusammensetzung der Knorpelglucosaminoglykane sind nur nach enzymatischem Aufschluss und anschließender chromatographischer Bestimmung der Abbauprodukte möglich (z.B. nach THEOCHARIS et al. 2001)

Ein Fall, der jedoch mit keiner der erwähnten analytischen Methoden ausgeschlossen werden kann, wäre dann gegeben, wenn eine geringere Anzahl von Chondroitinsulfatseitenketten durch eine Verlängerung kompensiert würde. Damit wäre eine Herausforderung für weiterführende Untersuchungen, die Zahl der von der Galaktosyltransferase gebildeten Linksequenzen mit dem Muster „Ser-Xyl-Gal-Gal“ quantitativ erfassbar zu machen.

6.8 Enzymaktivitäten

6.8.1 Manganabhängige Superoxiddismutase

Die Aktivität der MnSOD wurde in Leber, Lunge, Herz, Niere und Skelettmuskel gemessen. Es wurde dabei die Methode von CRAPO et al. (1978) angewendet. Obwohl modernere Ansätze zur Messung der SOD Aktivität existieren, wurde hier dieser Methode der Vorzug gegeben. Neuere Methoden wie zum Beispiel jene von SUN et al. (1988), UKEDA et al. (1997) sowie PESKIN und

WINTERBOURN (2000) nutzen als Chromogen statt Cytochrom c (Cyt c) Nitrobluetetrazolium (NBT) und dessen Derivate. Als Superoxidquelle nutzen aber auch diese Verfahren das Xanthin-/Xanthinoxidasesystem. Vorteile der moderneren Methoden sind lediglich die bessere Stabilität der Reagenzien und ein attraktiverer Preis. Die erwähnten Literaturstellen handeln überwiegend die Bestimmung der Gesamt-SOD-Aktivität ab. Im vorliegenden Fall sollte hingegen mit Kaliumcyanid (KCN) die Cu/Zn-SOD gehemmt werden. Wie einzelne Vorversuche zeigten, hemmt jedoch das KCN auch die Farbreaktion sowohl des NBT als auch des Cyt c. Während die Hemmung bei NBT schon innerhalb der ersten Minuten, also in der Phase der photometrischen Messung zum Tragen kommt, dauert es bei Cyt c über fünf Minuten, so dass hier nach dem Mischen der Reagenzien eine sichere, lineare, kinetische Messung über 3 bis 5 Minuten möglich ist.

Obwohl in der Leber eine sehr große Differenz zwischen minimaler und maximaler Mangankonzentration vorlag und die Aktivität der Arginase davon beeinflusst wurde, trat kein Effekt auf die Aktivität der MnSOD auf. Dafür gibt es zwei mögliche Erklärungen. Ursache hierfür könnte zum einen eine höhere Affinität der MnSOD zu Mn^{2+} als die der Arginase sein, so dass erst die Arginaseaktivität zurückgeht und danach die MnSOD-Aktivität. Zum anderen ist auch nicht ausgeschlossen, dass die Abnahme des freien Mn^{2+} in den verschiedenen Zellkompartimenten unterschiedlich schnell erfolgt, so dass gegebenenfalls die Konzentration in den Mitochondrien relativ lange konstant blieb, während im Cytosol schon nicht mehr genügend Mn^{2+} vorhanden war, um die Arginase zu aktivieren.

Wie auch bereits von PAYNTER (1980) und MALECKI et al. (1994) beobachtet wurde, ist im Herz die MnSOD-Aktivität deutlich von der Mangankonzentration in der Diät beeinflusst (Abbildung 26). In den Gruppen Mn-00 und Mn-02 wurden mit 47% bzw. 46% des maximalen Wertes die niedrigsten Aktivitäten erreicht. Bis hin zur Gruppe Mn-16, in der die maximale Aktivität erreicht wurde, stiegen die Werte kontinuierlich an. Gruppe Mn-16 und Mn-32 wiesen Werte auf gleichem Niveau auf. Die Aktivität der MnSOD steht mit dem vorhandenen Gewebemangan in einem logarithmischen Zusammenhang (Abbildung 27).

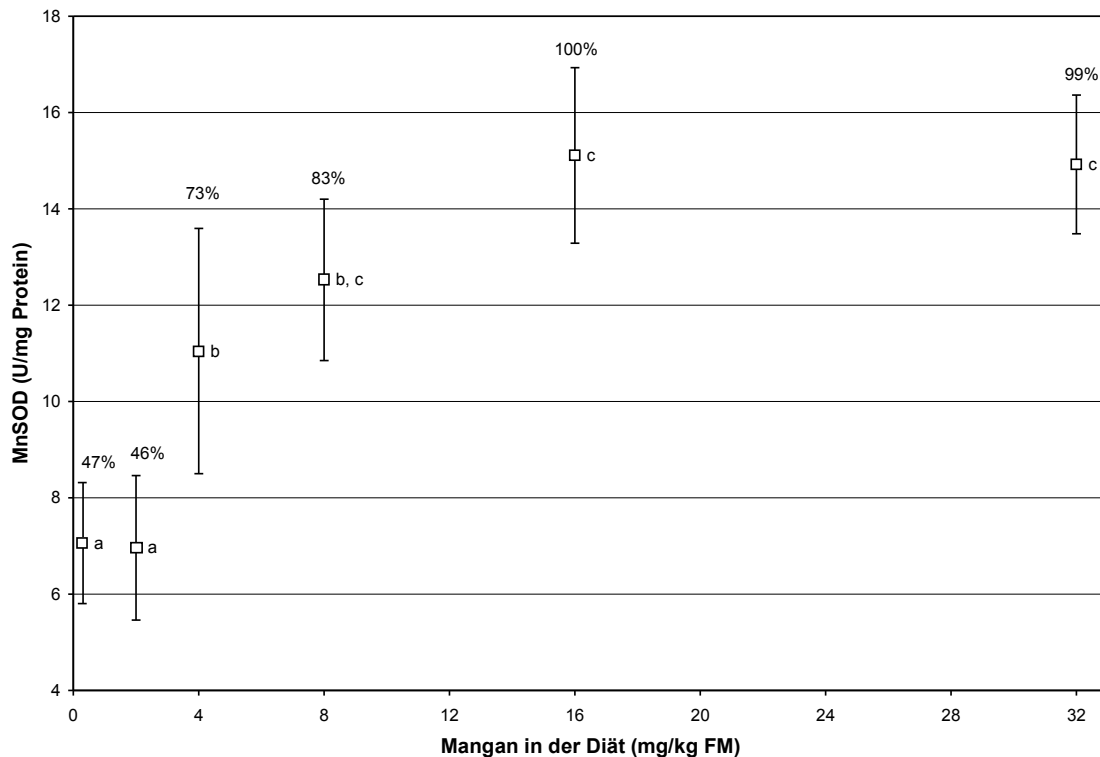


Abbildung 26: MnSOD-Aktivität im Herzen der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

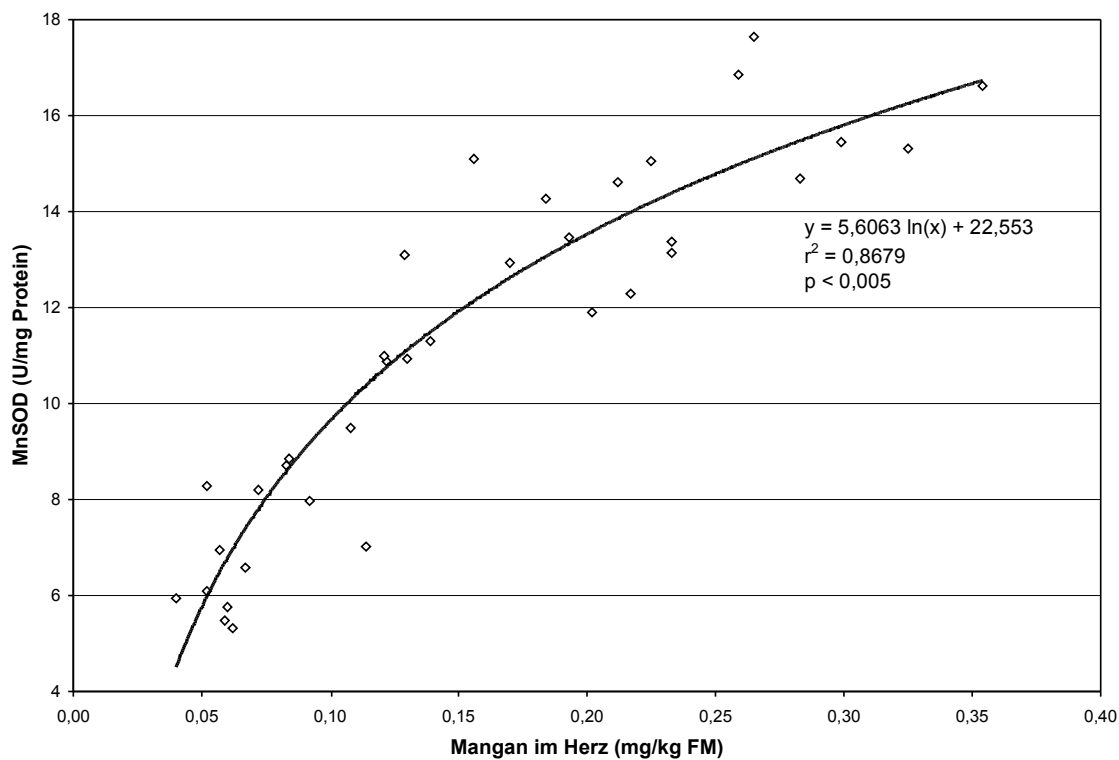


Abbildung 27: Abhängigkeit der Aktivität der manganabhängigen Superoxiddismutase von der Mangankonzentration im Herzen der Ferkel

Im Skelettmuskel sank zwar in den unteren drei Gruppen die Aktivität ab, eine Signifikanz konnte allerdings nur von Gruppe Mn-02 gegenüber den Gruppen Mn-08 bis Mn-32 festgestellt werden. Die Standardabweichungen innerhalb der Gruppen waren in diesem Gewebe sehr groß, so dass eine Unterscheidung erschwert wurde. Die hohen Schwankungen sind durch die Analytik bedingt, da die Messung mit unverdünntem Gewebehomogenat erfolgte. Somit sind Interferenzen durch Proben-trübung und andere Zellinhaltsstoffe (wie Cytochrom-c-oxidasen u.a.) weder auszuschließen, noch vollständig zu unterbinden. Die Hemmungen der Farbreaktion durch die SOD lagen daher unter 20% (optimaler Bereich um 50%).

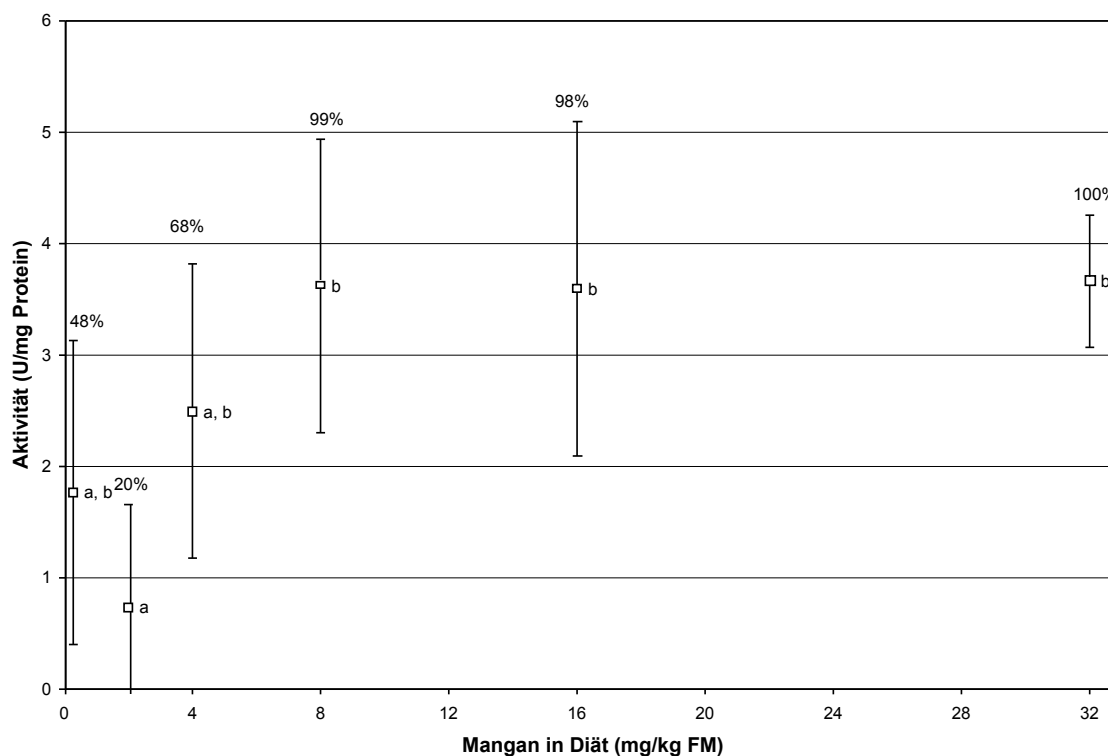


Abbildung 28: MnSOD-Aktivität im *Musculus longissimus* der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

Noch weniger aussagefähig sind die MnSOD-Aktivitäten in der Lunge. Obwohl der Gruppenmittelwert der Gruppe Mn-00 gegenüber den anderen Gruppen scheinbar erniedrigt war, sind weder signifikante noch tendenzielle Unterschiede erkennbar (Abbildung 29). Die Schwankungen der Aktivität zwischen den Einzeltieren sind wiederum relativ hoch, so dass eine Abgrenzung unmöglich ist. Auch hier wurde unverdünntes 1:10 Homogenat verwendet, was zu den schon aufgeführten analytischen Problemen führte.

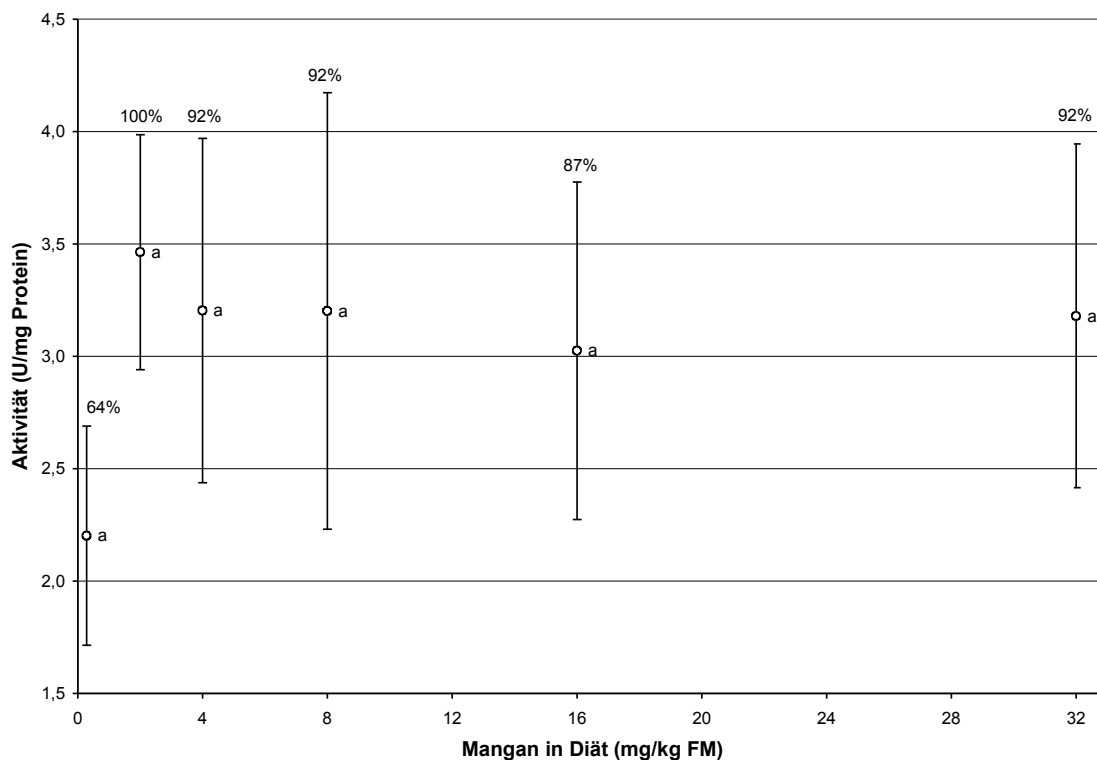


Abbildung 29: MnSOD-Aktivität in der Lunge der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

Im Nierengewebe bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen der MnSOD-Aktivität und der oralen Manganzufuhr. Obwohl auch bei diesem Gewebe ein 1:10 Homogenat verwendet wurde, wurden infolge der höheren Aktivitäten, Hemmungen bis 50% erreicht und damit der optimale Bereich des Assays genutzt.

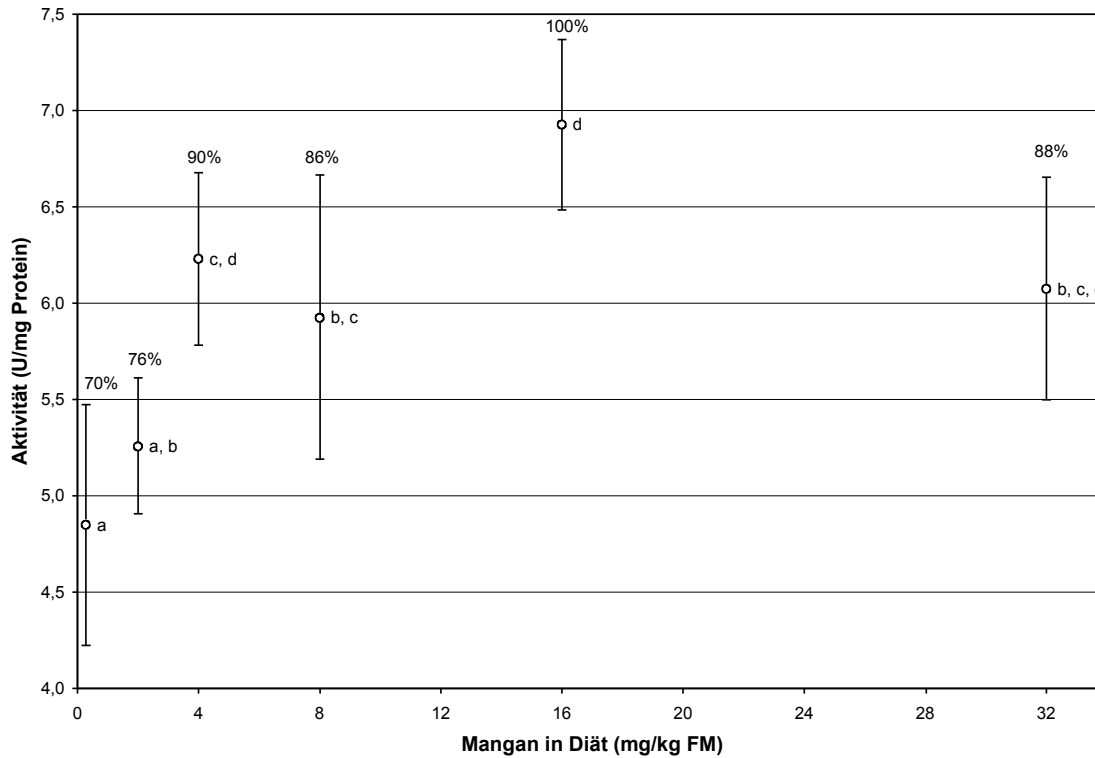


Abbildung 30: MnSOD-Aktivität in der Niere der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

Trotz der erheblich absinkenden Gewebemangangehalte blieb die MnSOD relativ konstant. Signifikante Veränderungen beschränkten sich auf die Gruppen Mn-00 und Mn-02.

Die Veränderungen der MnSOD Aktivitäten geben einen klaren Hinweis auf die Notwendigkeit einer ausreichenden Manganversorgung im Gewebe. Obwohl hier mittels der TBA-RS-Bestimmung keine Hinweise auf Auswirkungen verminderter antioxidativer Kapazität gefunden werden konnten, sind solche Rückgänge der MnSOD-Aktivität doch als deutliches Signal für eine subklinische Beeinträchtigung des Organismus zu verstehen. Der MnSOD kommt besonders durch ihre Lokalisation in den Mitochondrien eine wichtige Funktion im Radikalstoffwechsel zu. Die Tiere dieses Versuches waren ausreichend mit Vitamin E, Selen, Kupfer und Zink versorgt, welche ebenfalls für die Entgiftung von reaktivem Sauerstoff wichtig sind. Somit konnte hier ein Schaden vermieden werden. Dies kann aber nicht für Mangelsituationen angenommen werden, in denen auch Glutathionperoxidase oder Cu/Zn-MnSOD in ihrer Aktivität eingeschränkt sind.

6.8.2 Arginase

Die Aktivität der Arginase wurde zunächst im nativen Zustand gemessen. Anhand der Gruppenmittelwerte war ein Absinken der Aktivität in den niederen Gruppen zu beobachten, dies konnte aber infolge großer Standardabweichungen nur für Gruppe Mn-00 statistisch abgesichert werden (Abbildung 31). Der Rückgang betrug hier etwa 50% gegenüber der Gruppe Mn-32. Ein ähnlicher Rückgang wurde auch von BURCH et al. (1975) beobachtet.

Die Arginase, Teil des Harnstoffzyklus, ist stark von der Stoffwechsellage des Organismus abhängig. Aufgabe dieses Abbauweges ist die Entgiftung von Ammoniak (NH_3) zu Harnstoff. Die zur Entgiftung anstehende Menge von Ammoniak im Körper ist jedoch großen Schwankungen unterworfen. Immer wenn ein Individuum im Überschuss mit Eiweiß versorgt wird oder es sich in einer katabolen Stoffwechsellage befindet, wird vermehrt Ammoniak gebildet, der Harnstoffzyklus wird verstärkt gefordert und seine Enzyme müssen vermehrt exprimiert werden. Unzureichende Aktivierung von Arginaseprotein im Manganmangel könnte zudem eine Überexprimierung von Arginase zur Folge haben. Ein solcher Effekt deutet sich in den Gruppen Mn-00 bis Mn-08 an (Abbildung 31), läßt sich aber statistisch nicht absichern.

Da schon PAYNTER (1980) eine *in vitro* Aktivierung der Arginase mit Mn^{2+} beschreibt, wurde durch Zugabe eines manganhaltigen Puffers zum Assay in einem zweiten Meßdurchgang die maximal aktivierbare Arginaseaktivität bestimmt. Auch bei diesem Parameter waren die Standardabweichungen innerhalb der Gruppen hoch. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten wurden nicht gefunden (Abbildung 28).

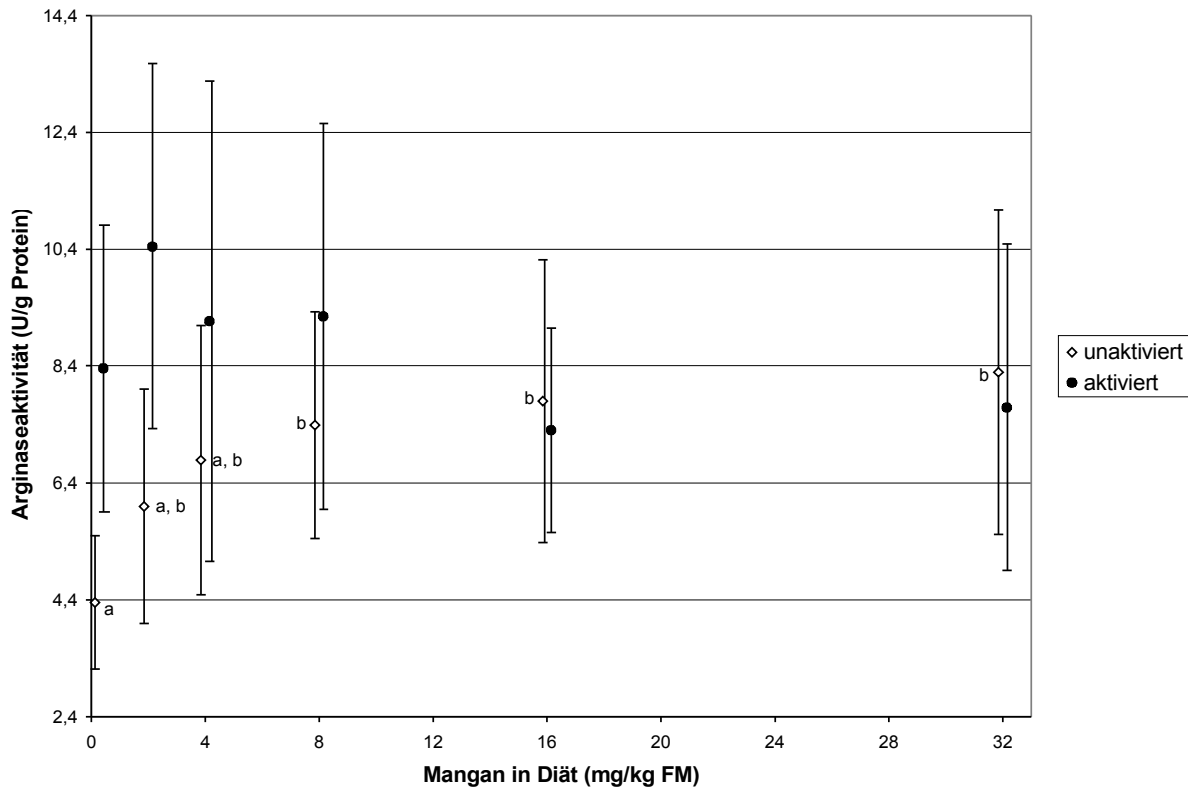


Abbildung 31: Arginaseaktivität in der Leber der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr vor und nach Aktivierung durch 1 mM Mn^{2+} im Reaktionsansatz

Die Ergebnisse wurden leicht versetzt abgebildet um trotz der Überlappung die Übersichtlichkeit zu wahren.

Erst durch Bildung eines Quotienten aus nativer und maximaler Aktivität für jedes Einzeltier, als relative Arginaseaktivität bezeichnet, konnten die individuellen Effekte eliminiert werden und ein Ergebnis erzielt werden, welches mehrere signifikante Stufen aufwies (Abbildung 32).

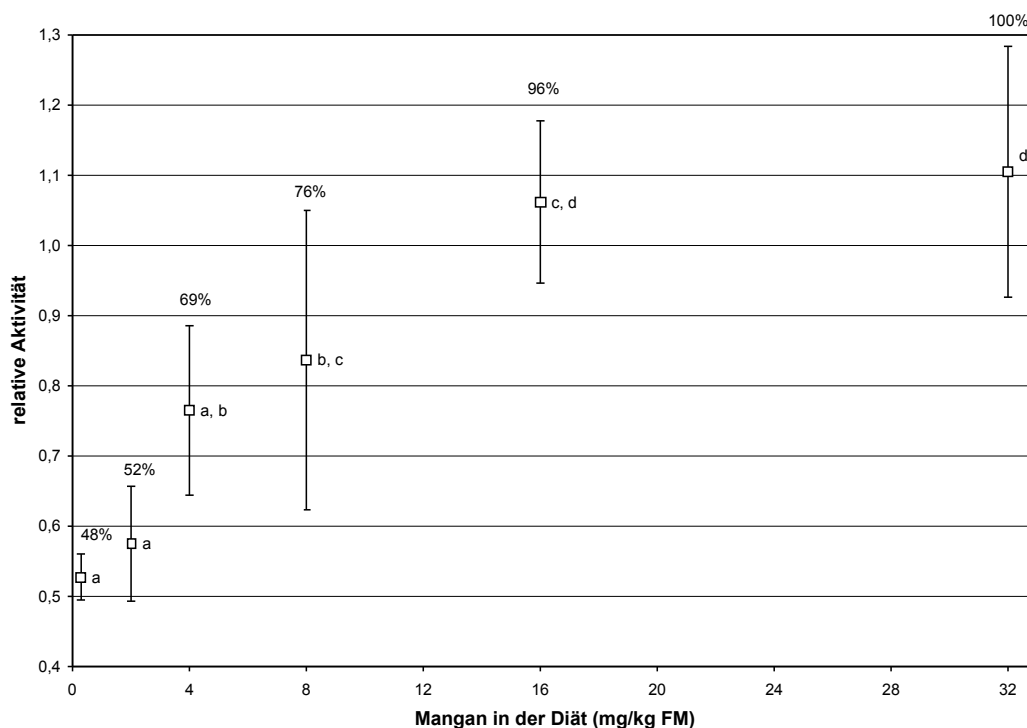


Abbildung 32: Relative Arginaseaktivität in der Leber der Ferkel in Abhängigkeit von der oralen Manganzufuhr

Diese relative Arginaseaktivität betrug demnach in Gruppe Mn-00 etwa die Hälfte der Aktivität in Gruppe Mn-32. Zwischen Gruppe Mn-16 und Mn-32 trat kein signifikanter Unterschied mehr auf.

Bei Betrachtung der Einzelwerte fiel jedoch auf, dass relative Aktivitäten deutlich größer 1 erreicht wurden, das heißt, dass nach Zugabe von Mn^{2+} weniger Arginin gespalten wurde als vor der Zugabe. Dieser Fall sollte theoretisch nicht eintreten. Dass dies doch geschieht, wird darauf zurückgeführt, dass die Arginaseaktivität über eine Standardkurve (mit aufgereinigter Arginase angefertigt) errechnet wurde. Theoretisch ist die Harnstoffbildung auch durch die Kopplung an eine $NADP^+$ -Bildung stöchiometrisch erfassbar, wie dies in anderen kontinuierlichen enzymatischen Assays ebenfalls praktiziert wird. Bei der Methode nach ÖZER (1984) findet die Reaktion bei $pH = 8$ statt. Dieser pH -Wert ist nicht für alle beteiligten Enzyme optimal und mit NH_3 kommt ein potentiell flüchtiges Intermediat in der Reaktion vor. Somit erreicht die Bestimmung nicht die stöchiometrisch berechnete Ausbeute an $NADP^+$. Daher empfiehlt ÖZER eine Eichkurve zu verwenden. Allerdings ist nicht bekannt, inwieweit die aufgereinigte Arginase, die als Standard eingesetzt wurde, schon aktiviert war oder sogar Mn^{2+} im Überschuss in den Assay einbrachte¹. Folglich beeinflusst der Mangangehalt im Standard auch die Standardkurve. Diese wurde für beide Ansätze getrennt angefertigt. Der Aspekt, dass die mit diesem Verfahren ermittelten relativen Aktivitäten um 1 liegen, spricht jedoch für dieses Vorgehen.

¹ Es wurden lediglich 10 mg aufgereinigte Arginase als Standard zugekauft. Eine Bestimmung des Mangangehaltes dieser geringen Menge war daher leider nicht möglich

Zur Messung der Arginaseaktivität existieren zahlreiche Methoden, hierunter sowohl kinetische als auch Endpunktmethode, Methoden mit natürlichen Substraten sowie synthetischen Substraten, Methoden die die Produktbildung (Harnstoff oder Ornithin) oder die Eduktabnahme (Arginin) erfassen. Alle diese Methoden haben Vor- und Nachteile. Die Methode nach Özer erschien für diese Fragestellung gut geeignet, da hier mit wenigen Standardreagenzien und wenigen Arbeitsschritten ein reproduzierbares Ergebnis erzielt werden konnte.

Die Berechnung der relativen Aktivität ermöglichte die Beobachtung der durch die variierte Manganzufuhr veränderten Aktivität der Arginase. Wird die relative Aktivität gegen die Mangankonzentration im Gewebe aufgetragen, ergibt sich ein annähernd linearer Zusammenhang (Abbildung 33). Dies ist insofern ein interessanter Aspekt, als die Interaktion des Mangans und der Arginase dem Massenwirkungsgesetz unterliegen müsste, womit ein linearer Zusammenhang unplausibel wäre. Die Form der Regressionskurve von oraler Zufuhr und relativer Arginaseaktivität (Abbildung 34) ist demnach hauptsächlich durch die Abhängigkeit der Gewebemangankonzentration von der oralen Zufuhr bestimmt.

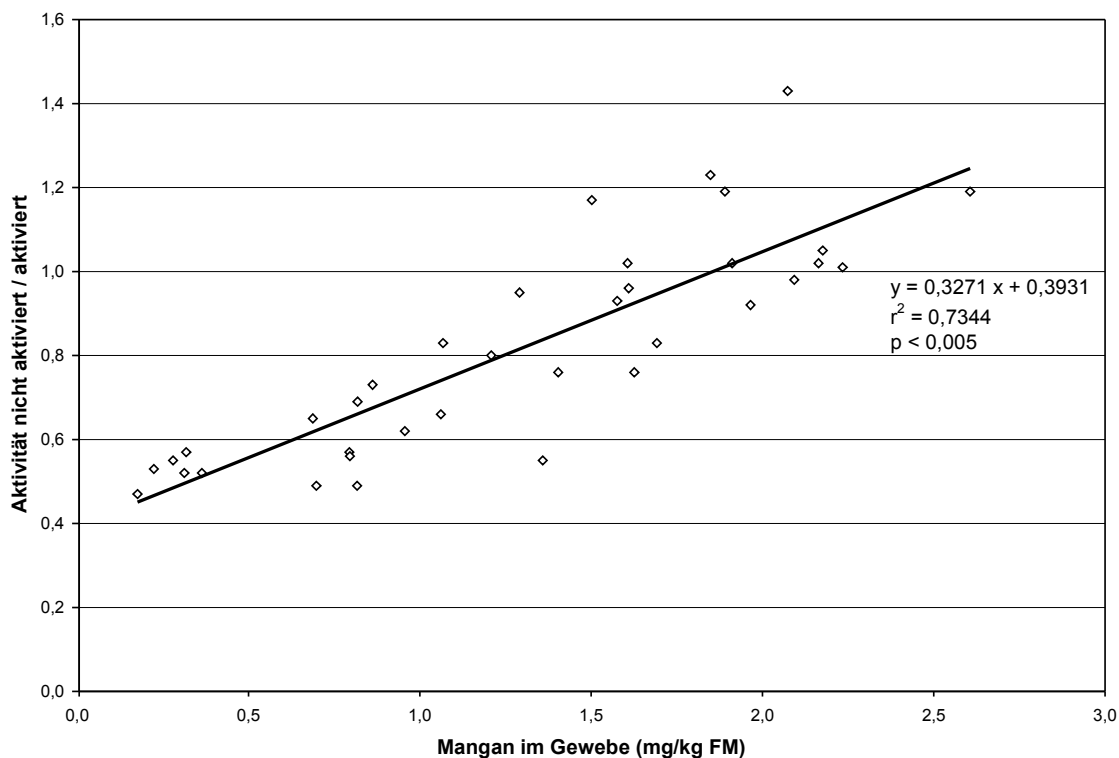


Abbildung 33: Abhängigkeit der Arginaseaktivität von dem Mangangehalt in der Leber

Schon in Gruppe Mn-08 war die Aktivität signifikant reduziert. Es ist damit davon auszugehen, dass solche Tiere, sollten sie in eine katabole Stoffwechsellage geraten, nicht mehr ausreichend NH_3 entgiften können. In der vorliegenden Studie nahmen die Tiere infolge einer sehr ausgewoge-

nen Eiweißversorgung keinen Schaden. Stark erhöhte Arginingehalte im Blut wurden bislang nur bei einem Enzymdefekt der Arginase beobachtet, welcher noch deutlich geringere Aktivitäten als bei Manganmangel nach sich zog (LAVULO et al. 2002). Ziel einer adäquaten Manganversorgung sollte die vollständige Aktivierung der Arginase sein, wozu nach den vorliegenden Ergebnissen zwischen 8 und 16 mg Mn/kg Futter erforderlich sind.

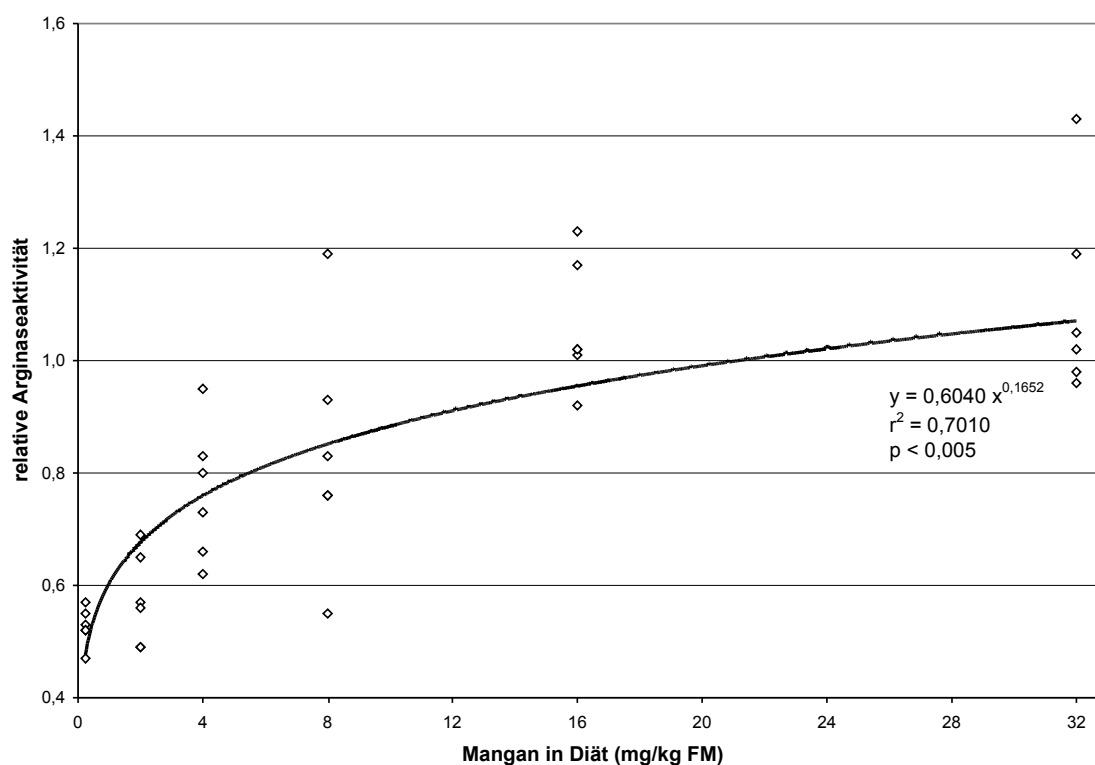


Abbildung 34: Abhängigkeit der relativen Arginaseaktivität von der oralen Manganzufuhr

6.8.3 Amylaseaktivität in Pankreas und Plasma

Bei der Amylaseaktivität war kein Einfluss der Manganzufuhr, weder im Pankreashomogenat noch im Plasma, erkennbar. Untersuchungen die einen solchen Einfluss feststellten (BRANNON et al. 1987, ABDELMOUMENE und GARDNER 1981, CHANG et al. 1990), wurden mit Ratten durchgeführt. Ob eine vermehrte Amylasesekretion im Manganmangel auch beim Schwein überhaupt auftritt, kann daher nicht mit Sicherheit angenommen werden. Des Weiteren ist nicht klar, wie lange und wie stark die Mangelsituation sein muss, um einen solchen Effekt auszulösen. Wäre dieser Effekt auch auf Ebene der Plasmaamylase nachweisbar gewesen, wäre dies ein sehr einfach zu bestimmender Parameter zur Verlaufskontrolle von Manganmangelexperimenten gewesen.

6.9 Ableitung des Manganbedarfs des Ferkels

Werden alle Ergebnisse zusammen betrachtet, wird deutlich, dass die Manganversorgung erst bei Unterschreiten von 16 mg Mn/kg Futter Veränderungen im Ferkel auslöst (abgesehen von der errechneten scheinbaren Manganverdaulichkeit). Schon bei Absinken der Versorgung auf 8 mg Mn/kg Futter sind die Mangangehalte in Leber, Lunge und Knochen signifikant reduziert. Einhergehend mit der Manganabnahme in der Leber nimmt die relative Arginaseaktivität ebenfalls signifikant ab. Bei 4 mg Mn/kg Futter sind alle Gewebemangangehalte sowie die MnSOD-Aktivität im Herzen signifikant reduziert. Bei weiterer Reduktion der Manganzufuhr ändert sich auch die Knorpelzusammensetzung.

Daraus wird deutlich, dass 8 mg Mn/kg Futter unzureichend für das Ferkel sind. Hingegen ist mit 16 mg Mn/kg Futter unter den geprüften Bedingungen der Bedarf rasch wachsender Ferkel erfüllt. Auch auf längere Sicht sind dabei keine Schäden zu erwarten.

In dieser Studie wurde mit einer teilsynthetischen Ration gearbeitet, die praktisch frei war von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, wie Gerbstoffe und Phytinsäure, welche sich potentiell negativ auf die Manganverfügbarkeit auswirken könnten. Daher wurden mit 28-43% (Mangelgruppe Mn-00 ausgenommen) hohe scheinbare Absorptionen gefunden. In Studien, deren Ration auf Körnermais und Sojaextraktionsschrot basierten, lag die scheinbare Absorption bei einem Gehalt von 20 mg Mn/kg Futter immerhin noch im Bereich von 16 – 21% (PALLAUF et al. 1992), 47% bei 16 mg Mn/kg Futter (KAYONGO-MALE et al. 1975), oder 25% bei 11-14 mg Mn/kg Futter (KIRCHGESSNER et al. 1981). Auch bei diesen Versuchen wurde die große Streuung der Ergebnisse bemängelt (KAYONGO-MALE 1980). Die Erfassung der Manganverfügbarkeit durch Messung der scheinbaren Absorption scheint damit grundsätzlich durch hohe Fehler behaftet zu sein. Die veröffentlichten Werte für Mais-Soja-Diäten liegen nur leicht unter denen der hier verwendeten teilsynthetischen Ration. Über Bilanzstudien mit Gerste und Weizen als Grundkomponenten liegen keine Daten vor. Gerste enthält in geringen Mengen Tannine, die potentiell in der Lage sind, die Manganverfügbarkeit zu reduzieren. In der Vergangenheit wurden diese Gehalte als unbedenklich eingestuft, wobei diese Aussage sich jedoch hauptsächlich auf die Depression der Proteinverdauung bezog (JEROCH et al. 1999). Dass Rationen mit Getreide, vor allem Gerste, als Hauptkomponente die Manganverwertung negativ beeinflussen können, ist damit aber nicht sicher ausgeschlossen.

Anhand der verfügbaren Literaturdaten wird die Verfügbarkeitshemmung durch Pflanzeninhaltsstoffe als gering und nicht quantifizierbar eingestuft. Daher ist festzuhalten, dass 16 mg Mn/kg Futter für das Ferkel in der Aufzuchtphase bedarfsdeckend sind.

Gehalte, von mehr als 40 mg Mn/kg Alleinfuttermittel, die deutlich mehr als den doppelten Bedarf des wachsenden Schweines liefern, sind nach diesem Kenntnisstand völlig unnötig und daher abzulehnen. Da erhöhte Manganzufuhr zur Akkumulation von Mn in der Gülle führt, gilt dies im Besonderen aus Gründen des Umweltschutzes.

Das Ferkel ist in der Säugephase, bevor Beifutter aufgenommen wird, marginal mit Mangan versorgt. In den untersuchten Eisenpräparaten wurden jedoch überwiegend hohe Mangangehalte vorgefunden. Es ist davon auszugehen, dass diese Präparate nach intramuskulärer Applikation das Mangan aufgrund ihrer Depotgalenik über mehrere Tage aus der Injektionsstelle freisetzen. Somit kann das freigesetzte Mangan nicht zu hohen Konzentrationsspitzen im Blut führen und wird nicht im „first pass“ über die Galle eliminiert. Es steht damit dem Organismus zur Verfügung. Dem Ferkel dürfte damit, neben dem wenigen aber hochverfügbaren Mangan aus der Milch, in den ersten Lebenstagen eine zusätzliche Manganquelle zur Verfügung stehen.

6.10 Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen aus dem vorliegenden Versuch zeigen, dass die Auswirkungen des Mangankommangels nicht nur an der klinischen Beobachtung von Skelettveränderungen festgemacht werden können. Bezeichnet man den Bereich zwischen adäquater Versorgung und dem Auftreten von Knochenverkrümmungen als latenten oder subklinischen Mangankommangel, so sind Veränderungen im Tier durch veränderte Arginase- und MnSOD-Aktivitäten nicht auszuschließen. Diese Veränderungen lassen sich jedoch nicht routinediagnostisch erfassen.

Nach den Ergebnissen dieser Studie reagieren die Enzymaktivitäten von Arginase in der Leber und MnSOD im Herzen empfindlich auf schwankende Mn-Versorgung und könnten demnach unter kontrollierten Bedingungen als Versorgungsstatusparameter herangezogen werden. Problematisch ist jedoch, dass die Aktivitäten dieser Enzyme auch durch Ernährung, oxidativen Stress, antioxidatives Potential und Belastung beeinflusst werden und damit nur unter Versuchsbedingungen ein Vergleich zweier ansonsten gleich behandelter Gruppen möglich ist.

Weil der Abfall der Aktivität von MnSOD und besonders der Arginase - diese sogar ein einem linearen Zusammenhang - mit der Mangankonzentration im entsprechenden Gewebe korrespondiert, kann auch die Gewebekonzentration als Statusparameter herangezogen werden. Diese ist überwiegend durch die Mangankversorgung beeinflusst und weniger durch die Stoffwechsellage und andere Störfaktoren. Für die Leber wurde als Referenzbereich ein Gehalt von 1,36 bis 2,61 mg Mn/kg FM und in der Niere von 0,93 bis 1,26 mg Mn/kg FM ermittelt.

Geschlechtsspezifische Auswirkungen wurden in dieser Arbeit, bedingt durch das Alter der Tiere und die Verwendung von männlichen Kastraten nicht untersucht. Bei der Verwendung weiblicher Tiere und bei fortschreitendem Wachstum würde eine ähnliche Betrachtung wie für das Herz auch für die Ovarien interessant, da hier die MnSOD für den korrekten Ablauf des Zyklus verantwortlich ist (SUGINO et al. 1993, TAKIGUCHI et al. 2000).

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Auswirkungen einer im Mangengehalt abgestuften Diät auf die körperliche Entwicklung, die Organmangankonzentrationen und manganabhängige Enzyme sowie deren Metaboliten untersucht, mit dem Ziel, den Manganbedarf des Ferkels näher einzugrenzen.

Zu diesem Zweck wurden frisch abgesetzte Ferkel nach einer viertägigen Eingewöhnungsphase mit einer Lebendmasse von $7,24 \pm 0,76$ kg in sechs Gruppen zu 6 Tieren aufgeteilt. Die Tiere erhielten eine Diät aus Magermilchpulver, Maisstärke, Glucose, Sojaöl und Zellulose, mit abgestuften Mangangehalten von 0,24; 2; 4; 8; 16 und 32 mg Mn/kg FM. Am Ende des Versuches von 6 Wochen Dauer erreichten die Tiere ein durchschnittliches Gewicht von 27 kg. In keiner Gruppe traten erkennbare Manganmangelsymptome auf.

Untersucht wurden die Mangangehalte in verschiedenen Geweben (Leber, Niere, Lunge, Herz, Muskel, Phalanx prox. und Pankreas), die Aktivitäten der manganabhängigen Enzyme Arginase in der Leber sowie der manganabhängigen Superoxiddismutase in verschiedenen Geweben. Im Gelenkknorpel wurde der Glykosaminoglykangehalt und im Herzen wurden oxidative Membranschäden untersucht.

Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden:

1. Alle untersuchten Organmangankonzentrationen wurden höchst signifikant durch die orale Manganzufuhr beeinflusst. Obwohl die Mangangehalte der verschiedenen Organe auf unterschiedlichem Niveau lagen, reagierten sie in ähnlicher Weise auf Veränderungen der Manganzufuhr.
2. Innerhalb der 6 Versuchswochen traten keine durch Manganmangel hervorgerufenen klinischen Veränderungen auf, obwohl die Zufuhr in der niedrigsten Mn-Gruppe mit 0,24 mg Mn/kg Futter nach bisherigem Kenntnisstand deutlich unzureichend war.
3. Die Aktivitäten der Arginase in der Leber und der manganabhängigen Superoxiddismutase im Herz gingen im Manganmangel deutlich zurück. Diese Enzyme eignen sich daher als Biomarker für den beginnenden Mn-Mangel.
4. Die Enzymaktivität der Arginase war bei marginaler Manganversorgung großen tierindividuellen Schwankungen unterworfen. Diese Schwankungen ließen sich durch Bildung des Quotienten aus Aktivität vor und nach Aktivierung mittels 1 mM Mn^{2+} im Reaktionsansatz, wesentlich reduzieren.

5. Die Mangangehalte in der Knochenasche ergaben in der Regressionsanalyse die deutlichste Abhängigkeit von der oralen Mn-Zufuhr. Damit war dieser Parameter prinzipiell am besten geeignet, um Rückschlüsse auf die Versorgung eines Individuums zu ziehen. Unter Berücksichtigung praktischer Aspekte wie Probengewinnung, -handhabung und -analyse erscheinen die Mangankonzentrationen in Leber und Niere jedoch die geeigneteren Statusparameter zu sein.
6. Ein Mangangehalt von 16 mg/kg FM (entsprechend 17 mg/kg TM) wurde unter den geprüften Bedingungen als ausreichende Versorgung für rasch wachsende Ferkel in der Aufzuchtphase ermittelt.
7. Bei den Gruppen mit weniger als 16 mg Mn/kg Futter trat ein subklinischer Manganmangel auf. Dies ist ein Zustand, in dem das Tier keine äußerlich erkennbaren Symptome zeigt, aber bereits labordiagnostisch Veränderungen nachgewiesen werden können. Bleibt ein Tier längere Zeit in einem subklinischen Mangel, ist mit klinischen Veränderungen und Leistungsrückgang zu rechnen.

8 Summary

In the present study the influence of a diet with different levels of manganese on performance, concentration of manganese in organs and manganese dependent enzymes as well as metabolites was investigated with the objective of determining the precise manganese requirement of piglets. After a four day pre-period weaned piglets with 7.24 ± 0.76 kg body weight were divided into six groups of six animals each. The animals were fed a diet containing skim milk powder, corn starch, glucose, soy bean oil and cellulose supplemented with different manganese levels (0.24, 2, 4, 8, 16 and 32 mg Mn/kg FM). After 6 weeks the piglets reached an average weight of 27 kg. Visible signs of manganese deficiency did not occur in any group.

The concentration of manganese in different tissues (liver, kidney, lung, heart, musculus longissimus, phalanx, pancreas) and the activities of the manganese dependent enzyme arginase in the liver and of manganese containing superoxide dismutase (MnSOD) in different tissues were measured. The glycosamine content in joint cartilage was analysed as well as oxidative membrane damage in the heart.

The results can be summarized as follows:

1. All manganese concentrations in the organs analysed were highly significantly influenced by the manganese concentration in the diet. Although the manganese content was at different levels in different organs, it was influenced in a similar way by the varying manganese supply.
2. Over the six week trial no clinical changes caused by manganese deficiency could be detected although the group with only 0.24 mg Mn/kg diet was clearly deficient in manganese according to all current recommendations.
3. The activity of arginase in the liver and of Mn SOD in the heart was reduced significantly in the manganese deficient group. These enzymes can therefore be used as suitable biomarkers for manganese deficiency.
4. The activity of arginase was subjected to high individual variations in the case of marginal manganese supply. These variations could be substantially reduced by using the quotient of arginase activity measured before and after activation with 1 mM M^{2+} in the assay buffer.
5. In the regression analysis the parameter manganese content in bone ash of the phalanx proximalis revealed the strongest dependency on oral manganese supplementation. Manganese concentration of bone ash thereby provides a suitable parameter for assessing individual manganese sta-

tus. However taking practical aspects into account such as obtaining, handling and analysing of samples, the manganese concentration in the liver and kidney seems to be the preferable status parameter.

6. A dietary manganese content of 16 mg/kg fresh matter (equal to 17 mg/kg dry matter) was determined as completely fulfilling the requirement of piglets under the conditions investigated.
7. In groups receiving less than 16 mg Mn/kg fresh matter a subclinical manganese deficiency occurred. In these cases no clinical symptoms were visible but metabolic changes could be detected by biochemical tests. If an animal however remains in subclinical deficiency over a longer period of time, clinical changes and negative effect on health and performance must be expected.

9 Literaturverzeichnis

- ABDELMOUMENE, S., J. D. GARDNER (1981): Effect of extracellular manganese on amylase release from dispersed pancreatic acini, *Am. J. Physiol.* **241**, G 359-364
- ABRAMS, E., J.W. LASSITER, W.J. MILLTER, M.W. NEATHERY, R.P. GENTRY, R.D. S (1976): Absorbtion as a factor in manganese homeostasis, *J. Anim. Sci.* **42**, 630-636
- ADEOLA, O., B.V. LAWRENCE, A.L. SUTTON, T.R. CLINE (1995): Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs, *J. Anim. Sci.* **73**, 3384-3391
- AISEN, P., R. AASA, A.G. REDFIELD (1969): The chromium, manganese, and cobalt complexes of transferrin, *J. Biol. Chem.* **244**, 4628-4633
- ARC [AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL] (1981): The nutrient requirements of Pigs, Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough UK
- ATKINSON, S.A., J.K. SHAH, C.E. WEBBER, I.L. GIBSON, R.S. GIBSON (1993): A multi-element isotopic tracer assessment of true fractional absorption of minerals from formula with additives of calcium, phosphorus, zinc, copper and iron in young piglets, *J. Nutr.* **123**, 1586-1593
- BAKER, D.H., G.W. ODUHO (1994): Manganese utilization in the chick: Effects of excess phosphorus on chicks fed manganese-deficient diets, *Poult. Sci.* **73**, 1162-1165
- BAKER, D.H., K.M. HALPIN (1987): Efficacy of a manganese-protein chelate compared with that of manganese sulfate for chicks, *Poult. Sci.* **66**, 1561-1563
- BAKER, D.H., K.M. HALPIN (1991): Manganese and iron interrelationship in the chick, *Poult. Sci.* **70**, 146-152
- BALY, D.L., D.L. CURRY, C.L. KEEN, L.S. HURLEY (1984): Effect of manganese deficiency on insulin secretion and carbohydrate homeostasis in rats, *J. Nutr.* **114**, 1438-1446
- BALY, D.L., C.L. KEEN, L.S. HURLEY (1985a): Pyruvatecarboxylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activity in developing rats: effect of manganese deficiency, *J. Nutr.* **115**, 872-879
- BALY, D.L., D.L. CURRY, C.L. KEEN, L.S. HURLEY (1985b): Dynamics of insulin and glucagon release in rats: influence of dietary manganese, *Endocrinology* **116**, 1734-1740
- BALY, D.L., C.L. KEEN, C. HURLEY, L. HURLEY (1985c): Effect of manganese deficiency on carbohydrate metabolism in C.F. Mills, I, Bremmer, J.K. Chester: Trace Elements in Man and Animals - TEMA 5, Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, 254-257
- BALY, D.L., J.S SCHNEIDERMAN, A.L. GARCIA-WELSH (1990): Effect of manganese deficiency on insulin binding, glucose transport and metabolism in rat adipocytes, *J. Nutr.* **120**, 1075-1079
- BARCELOUX, D.G. (1999): Manganese, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* **37**, 293-307
- BELL, L.T., L.S. HURLEY (1973): Ultrastructural effects of manganese deficiency in liver, heart, kidney and pancreas of mice, *Lab. Invest.* **29**, 723-736
- BERTINCHAMPS, A.J., S.T. MILLER, G.B. COTZIAS (1966): Interdependence of routes excreting manganese, *Am. J. Physiol.* **211**, 217-224

- BEYER, W., J. IMLAY, I. FRIDOVICH (1991): Superoxid Dismutases, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **40**, 221-253
- BITTER T., H. MUIR (1962): A modified uronic acid carbazole reaction, *Anal. Biochem.* **4**, 330-334
- BOLZE, M.S., R.D. REEVES, F.E. LINDBECK, S.F. KEMP, J. ELDERS (1985): Influence of manganese on growth, somatomedin and glycosaminoglycan metabolism, *J. Nutr.* **115**, 352-358
- BOND, J.S., M.L. FAILLA, D.F. UNGER (1983): Elevated manganese concentration and arginase activity in livers of streptozotocin-induced diabetic rats, *J. Biol. Chem.* **258**, 8004-8009
- BOYER, P.D., J.H. SHAW, P.H. PHILLIPS (1942): Studies on manganese deficiency in the rat, *J. Biol. Chem.* **143**, 417-425
- BRADFORD, M.M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* **72**, 248-254
- BRANNON, P.M., V.P. COLLINS, M. KORC (1987): Alterations of pancreatic digestive enzyme content in the manganese-deficient rat, *J. Nutr.* **2**, 305-311
- BURCH, R.E., R.V. WILLIAMS, H.K. HAHN, M.M. JETTON, S.F. SULLIVAN (1975): Tissue trace element and enzyme content in pigs fed a low manganese diet I: A relationship between manganese and selenium, *J. Lab. Clin. Med.* **86**, 132-138
- BURNETT, W. T. JR., R.R. BIGELOW, A.W. KIMBALL, C.W. SHEPPARD (1952): Radiomanganese studies on the mouse, rat and pancreatic fistula dog, *Am. J. Physiol.* **168**, 620-625
- CARTER, J.C. JR, W.J. MILLER, M.W. NEATHERY, R.P. GENTRY, P.E. STAKE, D.M. BLACKMON (1974): Manganese metabolism with oral and intravenous ⁵⁴Mn young calves as influenced by supplemental manganese, *J. Anim. Sci.* **38**, 1284-1290
- CHANG, S.C., P.M. BRANNON, M. KORC (1990): Effects of dietary manganese deficiency on rat pancreatic amylase mRNA levels, *J. Nutr.* **120**, 1228-1234
- CHRISTIANSON, S.L., E.R. PEO JR, A.J. LEWIS (1989): Effects of dietary manganese levels on reproductive performance of sows, *J. Anim. Sci.* **67**, 251
- CLEGG, M.S., B. LONNERDAL, L.S. HURLEY, C.L. KEEN (1986): Analysis of whole blood manganese by flameless atomic absorption spectrophotometry and its use as an indicator of manganese status in animals, *Anal. Biochem.* **157**, 12-18
- COMBS, D.K. (1987): Hair analysis as an indicator of mineral status of livestock, *J. Anim. Sci.* **65**, 1753-1758
- COTZIAS, G.C., J.J. GRENOUGH (1958): The high specificity of the manganese pathway through the body, *J. Clin. Invest* **37**, 1298-1305
- CRAPO, J.D., J.M. McCORD, I. FRIDOVICH (1978): Preparation and assay of superoxide dismutases, *Meth. Enzymol.* **53**, 282-393
- DAVIDSON, L., B.O. LÖNNERDAL, B. SANDSTRÖM, C. KUNZ (1989): Identification of transferrin as the major plasma carrier protein for manganese introduced orally or intravenously or after in vitro addition in the rat, *J. Nutr.* **119**, 1461-1464

- DAVIS, C.D., D.M. NEY, J.L. GREGER (1990): Manganese, iron and lipid interactions in rats, *J. Nutr.* **120**, 507-513
- DAVIS, C.D., T.L. WOLF, J.L. (1992a): Varying levels of manganese and iron affect absorption and gut endogenous losses of manganese by rats, *J. Nutr.* **122**, 1300-1308
- DAVIS, C.D., E.A. MALECKI, J. L. GREGER (1992b): Interactions among dietary manganese, heme iron, and nonheme iron in women, *Am. J. Clin. Nutr.* **56**, 926-32
- DAVIS, C.D., J.L. GREGER (1992): Longitudinal changes of manganese-dependent superoxide dismutase and other indexes of manganese and iron status in women, *Am. J. Clin. Nutr.* **55**, 747-52
- DE ROSA, G., C.L. KEEN, R.M. LEACH, L.S. HURLEY (1980): Regulation of superoxide dismutase activity by dietary manganese, *J. Nutr.* **110**, 795-804
- DIEZ-EWALD, M., L.R. WEINTRAUB, W.H. CROSBY (1968): Interrelationship of iron and manganese metabolism, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **129**, 448-451
- DLG [Deutsche Landwirtschaftliche Gesellschaft] (1973): DLG-Futterwerttabellen: Mineralstoffgehalte in Futtermitteln, DLG-Verlag, Frankfurt (Main)
- DORMAN, D.C., M.F. STRUVE, R.A. JAMES, B.E. McMANUS, M.W. MARSHALL, B.A. WONG (2001): Influence of dietary manganese on the pharmacokinetics of inhaled manganese sulfate in male CD rats, *Toxicological Sciences* **60**, 242-251
- DREOSTI, I.E., I.R. RECORD, R.A. BUCKLEY, S.J. MANUEL, F.J. FRASER (1981): Ethanol and hepatic superoxide dismutase in rats in J. McC. Howell, J.M. Gawthorne, C.L. White: Trace Element Metabolism in Man and Animals - TEMA 4, Commonwealth Agricultural Bureaux, , 617-620
- DREOSTI, I.E., S.J. MANUEL, R.A. BUCKLEY (1982): Superoxide dismutase(EC 1.15.1.1), manganese and the effect of ethanol in adult and foetal rats, *Br. J. Nutr.* **48**, 205-210
- EKMEKCIOGLU C, PROHASKA C, POMAZAL K, STEFFAN I, SCHERNTHANER G, MARKTL W (2001): Concentrations of seven trace elements in different hematological matrices in patients with type 2 diabetes as compared to healthy controls, *Biol. Trace. Elem. Res.* **79**, 205-219
- ELLIS, G.H., S.E. SMITH, E.M. GATES (1947): Further studies on manganese deficiency in the rabbit, *J. Nutr.* **34**, 21-31
- ERWAY, L., L.S. HURLEY, A.S. FRASER (1970): Congenital ataxia and otolith defects due to manganese deficiency in mice, *J. Nutr.* **100**, 643-654
- FALBE, J., M. REGNITZ (1998): Mangan in Römpp: Lexikon Chemie, 10., völlig überarbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2517-2524
- FARNDAL, R.W., C.A. SAYERS, A.J. BARRETT (1982): A direct spectrophotometric microassay for sulfated glycosaminoglycans in cartilage cultures, *Connect. Tissue Res.* **9**, 247-248
- FINLEY, J.W. (1998): Manganese uptake and release by cultured human hepato-carcinoma (Hep-G2) cells, *Biol. Trace. Elem. Res.* **64**, 101-118
- FINLEY, J.W., J.S. CATON, Z. ZHOU, K.L. DAVISON (1997): A surgical model for determination of true absorption and biliary excretion of manganese in conscious swine fed commercial diets, *J. Nutr.* **127**, 2334-2341

- FINLEY, J.W., J.S. CATON, Z. ZHOU, K.L. DAVISON (1999): Manganese absorption and retention by young women is associated with serum ferritin concentration, *Am. J. Clin. Nutr.* **70**, 37-43
- FINLEY, J.W., C.D. DAVIS (1999): Manganese deficiency and toxicity: are high or low dietary amounts of manganese cause for concern?, *Biofactors* **10**, 15-24
- FINLEY, J.W., C.D. DAVIS (2001): Manganese absorption and retention in rats is affected by the type of dietary fat, *Biol. Trace. Elem. Res.* **82**, 143-158
- FINLEY, J.W., P. MONROE (1997): Mn absorption: The use of CACO-2 cells as a model of the intestinal epithelia, *Biol. Trace. Elem. Res.* **8**, 92-101
- FITZGERALD, K., V. MIKALUNAS, H. RUBIN, R. McCARTHEY, A. VANAGUNAS, R.M. CRAIG (1999): Hypermanganesemia in patients receiving total parenteral nutrition, *J. Parenter. Enteral. Nutr.* **23**, 333-336
- FLY, A. D., O. A. IZQUIERDO, K. R. LOWRY, D. H. BAKER (1989): Manganese bioavailability in a Mn-methionine chelate, *Nutr. Res.* **9**, 901-910
- FÜRLI, M., T. SATTLER, M. ANKE (2004): Sekundärer Manganmangel als Bestandsproblem bei Rindern; Ein Fallbericht, *Tierärztl. Praxis* **32**, 126-132
- GAMBLE, C:T., S.L. HANSARD, B.R. MOSS, D.J. DAVIS, E.R. LIDVALL (1971): Manganese utilization and placental transfer in the gravid gilt, *J. Anim. Sci.* **32**, 84-87
- GARCIA-ARANDA, J.A., R.A. WAPNIR, F. LIFSHITZ (1983): In vivo intestinal absorption of manganese in experimental malnutrition, *J. Nutr.* **113**, 2601-2607
- GfE [Ausschuß für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie] (1987): Energie- und Nährstoffbedarf der Schweine, DLG-Verlag, Frankfurt
- GIBBONS, R.A., S.N. DIXON, K. HALLIS, A.M. RUSSELL, B.F. SANSOM, H.W. SYMONDS (1976): Manganese metabolism in cows and goats, *Biochim. Biophys. Acta* **444**, 1-10
- GREGER, J. L. (1998): Dietary standards for manganese: Overlap between nutritional and toxicological studies, *J. Nutr.* **128**, 368S-371S
- GREGER, J.L., S.M. SNEDEKER (1980): Effect of dietary protein and phosphorus levels on the utilization of zinc copper and manganese by adult males, *J. Nutr.* **110**, 2243-2253
- GRUMMER, R.H., O.G. BENTLEY, P.H. PHILLIPS, G. BOSTHEDT (1950): The role of manganese in growth, reproduction and lactation of swine, *J. Anim. Sci.* **9**, 170-175
- GÜNTHER R., V. HLLRIEGL, J. VORMANN, J. BUBECK, H.G. CLASSEN (1994): Increased lipid peroxidation in rat tissues by magnesium deficiency and vitamin E depletion, *Magnesium Bulletin* **16**, 38-42
- HAMS, G.A., J.K. FABRI (1988): An analysis for blood manganese used to assess environmental exposure, *Clin. Chem.* **34**, 1121-1123
- HEINEMANN, V. (1991): Einfluß eines alimentären Manganmangels auf die Reproduktionsleistung weiblicher Kaninchen, Diss. med. vet., Gießen
- HEISEKE, D., M. KIRCHGESSNER (1979): Zur Aktivität verschiedener Dehydrogenasen und der alkalischen Phosphatase bei Manganmangel, *Nutr. Metab.* **23**, 211-216

- HIGUCHI, T., S. TAMURA, K. TAKAGAKI, T. NAKAMURA, A. MORIKAWA, K. TANAKA, A. TANAKA, Y. SAITO, M. ENDO (1994): A method for determination of galactosyltransferase I activity synthesizing the proteoglycan linkage region, *J. Biochem. Biophys. Methods* **29**, 135-142
- HO, S.Y., W.J. MILLER, R.P.P. GENTRY, M.W. NEATHERY, D.M. BLACKMON (1984): Effect of high but nontoxic manganese and iron on their metabolism by calves, *J. Dairy. Sci.* **67**, 1489-1495
- HÖHLER, D., PALLAUF J. (1994): Effekt einer abgestuften Zn-Zufuhr und Zulagen von Citronensäure zu einer Mais-Soja-Diät auf Leistungsparameter und Mineralstoffverwertung beim Ferkel, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **71**, 188-199
- INRA (1989): L' alimentation des animaux monogastriques: porc, lapin, volailles, 2. ed, Inst. National de la Recherche Agronomique, Paris
- JEROCH, H., W. DROCHNER, O. SIMON (1999): Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, UTB-Verlag, Stuttgart
- JOHNSON, S.R. (1943): Studies with swine on ratios extremely low in manganese, *J. Anim. Sci.* **2**, 14-22
- KAWANO, J., D.M. NEY, C.L. KEEN, B.O. SCHNEEMANN (1987): Altered high density lipoprotein composition in manganese-deficient sprague-dawley and wistar rats, *J. Nutr.* **117**, 902-906
- KAYONGO-MALE, H. (1980): Manganese (Mn) nutrition of the pig. 2 The availability of Mn from different sources to the growing pig, *Bull. Anim. Health. Prod. Afr.* **28**, 145-153
- KAYONGO-MALE, H., D.E. ULLREY, E.R. MILLER (1975): The Mn requirement of the baby pig from sows fed a low Mn diet, *E. Afr. agric. For. J.* **41**, 157-164
- KEEN, C.L., M.S. CLEGG, B. LÖNNERDAL, L.S. HURLEY (1983b): Whole-blood manganese as an indicator of body manganese, *N. Engl. J. Med.* **308**, 1230
- KEEN, C.L., B. LÖNNERDAL, L.S. HURLEY (1984): Manganese in E. Frieden: Biochemistry of the Essential Ultratrace Elements, Plenum Press, New York, 89-132
- KEEN, C.L. D.L. BALY, K.T. TAMAI, B. LÖNNERDAL (1985): Influence of manganese on glucose metabolism in C.F. Mills, I. Bremner, J.K. Chesters: Trace Elements in Man and Animals - TEMA 5, Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, UK, 258-261
- KEMMERER, A.R., C.A. ELVEHJEM, E.B. HART (1931): Studies on the relation of manganese to the nutrition of the mouse, *J. Biol. Chem.* **92**, 623-630
- KIES, C. (1994): Bioavailability of manganese in Klimis-Tavantzis, D.L.: Manganese in health and disease, CRC Press, Boca Raton, 39-58
- KIRCHGESSNER, M. D.A. ROTH-MAIER, R. SPÖRL (1981): Untersuchungen um Trächtigkeitsanabolismus der Spurenelemente Kupfer, Zink, Nickel und Mangan bei Zuchtsauen, *Arch. Tierernähr.* **32**, 21-34
- KIRCHGESSNER, M., D.A. ROTH-MAIER, E. GRASSMANN, H. MADER (1982): Fe-, Cu-, Zn-, Ni- and Mn-concentrations in sow's milk during a five-week lactation period, *Arch. Tierernähr.* **32**, 853-858

- KIRCHGESSNER, M., F.J. SCHWARZ, E. GRASSMANN, H.P. ROTH, A. SCHNEGG (1985): Experimentelle Studien zur Diagnose von Spurenelementmangel(Cu, Ni, Mn, Zn) in E. Gladge: Spurenelemente - Analytik, Umsatz, Bedarf, Mangel und Toxikologie, Thieme Verlag, Stuttgart, 68-91
- KIRCHGESSNER, M., W. KULIG, M. KREUZER (1990): Biliary flow rate and concentration of Fe, Cu and Mn as affected by enteral or parenteral Ni supply, *J. Trace. Elem. Electrolytes. Health. Dis.* **4**, 175-182
- KIRCHGESSNER, M., D. HEISEKE (1977): Wechselbeziehungen von Mangan zu Kupfer in Verschiedenen Organen der Ratte bei ausreichender und mangelnder Mn-Versorgung, *Z Tierphysiol Tierernahr Futtermittelkd* **39**, 272-276
- KIRCHGESSNER, M., D. HEISEKE (1978): Arginase-Aktivität in der Leber wachsender Ratten bei Mn-Mangel, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **48**, 75-78
- KLAASSEN, C.D. (1974): Biliary excretion of manganese in rats, rabbits, and dogs, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **29**, 458-468
- KLIMIS-TAVANTZIS, D.J., R.M. LEACH JR, P.M. KRIS-ETHERTON (1983): The effect of dietary manganese deficiency on cholesterol and lipid metabolism in the wistar rat and in the genetically hypercholesterolemic RICO rat, *J. Nutr.* **113**, 328-336
- KOSITAL, K., I. RABAR, M. BLANUSA, I. SIMONOVIC (1980): The effect of iron additive on cadmium, mercury and manganese absorption in rats, *Environ. Res.* **22**, 40-45
- KRATZER, F.H., P. VOHRA (1986): Chelates in Nutrition, CRC Press, Boca Raton, Florida
- KUHLMAN, G.,R.E. ROMPALA (1998): The influence of dietary sources of zinc, copper and manganese on canine reproductive performance and hair mineral content, *J. Nutr.* **128**, 2603S-2605S
- L'HERROUX, L., S. LE ROUX, P. APPRIOU, J. MARTINEZ (1997): Behavior of metals following intensive pig slurry applications to a natural field treatment process in brittany (France), *Environ. Pollut.* **97**, 119-130
- LASSITER, J.W., W.J. MILLER, F.M. PATE, R.P. GENTRY (1972): Effect of dietary calcium and phosphorus on 54Mn metabolism following single trace intraperitoneal and oral doses in rats, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **139**, 345-348
- LAVULO, L.T., F.A. EMIG, D.E. ASH (2002): Functional consequences of the G235R mutation in liver arginase leading to hyperargininemia, *Arch. Biochem. Biophys.* **399**, 49-55
- LAYNE, E. (1957): Spectrophotometric and turbidometric methods for measuring proteins, *Meth. Enzymol.* **3**, 447-454
- LEACH, R.M. JR (1967): Role of manganese in the synthesis of mucopolysaccharides, *Fed. Proc.* **26**, 118-120
- LEACH, R.M. JR (1971): Role of manganese in mucopolysaccharide metabolism, *Fed. Proc.* **30**, 991-995
- LEACH, R.M. JR, A.M. MUENSTER, E.M. WIEN (1969): Studies on the role of manganese in bone formation. II: Effect upon chondroitin sulfate synthesis in chick epiphyseal cartilage, *Arch. Biochem. Biophys.* **113**, 22-28
- LEE, D.Y., P.E. JOHNSON (1988): Factors affecting absorption and excretion of 54Mn in rats, *J. Nutr.* **118**, 1509-1516

- LEIBHOLZ, J.M., V.C. SPEER, V.W. HAYS (1972): Effect of dietary manganese on baby pig performance and tissue manganese levels, *J. Anim. Sci.* **21**, 772-776
- LIU, A.C.H., B.S. HEINRICHS, R.M. LEACH JR (1994): Influence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage, *Poult. Sci.* **73**, 663-669
- LONGSTAFF, M., R. HILL (1972): The hexosamine and uronic acid contents of the matrix of shells of eggs from pullets fed on diets of different manganese content, *Br. Poult. Sci.* **13**, 377-385
- LÖNNERDAL, B., C.L. KEEN, L.S. HURLEY (1983): Manganese binding in human milk and cow's milk - an effect on bioavailability, *Fed. Proc.* **42**, 926
- LÖNNERDAL, B., C.L. KEEN, J.G. BELL, B. SANDSTRÖM (1987): Manganese uptake and retention; experiential animal and human studies in Kies, C.: Nutritional Bioavailability of Manganese, American Chemical Society, Washington DC, 9-20
- MALECKI, E. A. (2001): Limited role of transferrin in manganese transport to the brain, *J. Nutr.* **131**, 1584
- MALECKI, E.A., D.L. HTTNER, J.L. GREGER (1994): Manganese status, gut endogenous losses of manganese, and antioxidant enzyme activity in rats fed varying levels of manganese and fat, *Biol. Trace. Elem. Res.* **42**, 17-29
- MASTER, D.G., D.I. PAYTNER, J. BRIEGEL, S.K. BAKER, D.B. PURSER (1988): Infulence of manganese intake on body, wool, testicular growth of young rams and on the concentration of manganese and the activity of manganese enzymes in tissues, *Aust. J. Agric. Res.* **39**, 517-524
- MATRONE, G., R.H. HARTMAN, A.J. CLAWSON (1959): Studies of a manganese-iron antagonism in the nutrition of rabbits and piglets, *J. Nutr.* **67**, 309-317
- MATSUDA, A., M. KIMURA, M. KATAOKA, S. OHKUMA, M. SATO, Y. ITOKAWA (1989): Quantifying manganese in lymphocytes to assess manganese nutritional status, *Clin. Chem.* **35**, 1939-1941
- MATSUDA, A., M. KIMURA, T. TAKEDA, M. KATAOKA, M. SATO, Y. ITOKAWA (1994): Changes in manganese content of mononuclear blood cells in patients receiving total parenteral nutrition, *Clin. Chem.* **40**, 829-832
- McEUEN, A.R. (1981): Manganese metalloproteins and manganeseactivated enzymes in Hill. H. A. O.: Inorganic Biochemistry, Burlington House, London, 249-282
- McNATT, M.L., F.M. FISER, M.J. ELDERS, B.S. KILGORE, W.G. SMITH, E.R. HUGHES (1976): Uridine diphosphate xylosyltransferase activity in cartilage from manganese-deficient chicks, *Biochem. J.* **160**, 211-216
- MILLER, R.C., T.B. KEITH, M.A. McCARTY, W.T.S THROP (1940): Manganese as a possible factor influencing the occurence of lameness in pigs, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **45**, 50-51
- MILLER, K.B., J.S. CATON, D.M. SCHAFER, D.J. SMITH, J.W. FINLEY (2000): High dietary manganese lowers heart magnesium in pigs fed a low-magnesium diet, *J. Nutr.* **130**, 2032-2035
- MILNE, D.B., R.L. SIMS, N.V. RALSTON (1990): Manganese content of the cellular components of blood, *Clin. Chem.* **36**, 450-452

- NANDEDKAR, A.K., C.E. NURSE, F. FRIEDBERG (1973): Mn⁺⁺ binding by plasma proteins, *Int J Pept Protein Res* **5**, 279-281
- NAUMANN, C., R. BASSLER (1997): VDLUFA-Methodenbuch, Band III: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- NEHER, G.M., L.P. DOYLE, D.M. THRASHER, M.P. PLUMLEE (1956): Radiographic and histopathological findings in the bones of swine deficient in manganese, *Am. J. Vet. Res.* **17**, 121-128
- NEWLAND, H.W., G.K. DAVIS (1961): Placental transfer of manganese in swine, *J. Anim. Sci.* **20**, 15-17
- NICKEL, R., A. SCHUMMER, E. SEIFERLE (1992): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band I: Bewegungsapparat, 6. Auflage, Parey-Verlag, Berlin
- NRC [National Research Council] (1998): Nutrient requirements of swine, 10th ed., National Academy Press, Washington D.C.
- ORENT, E.R., E.V. McCOLLUM (1931): Effects of deprivation of manganese in the rat, *J. Biol. Chem.* **92**, 651-678
- ÖZER, N. (1984): A new enzyme-coupled spectrophotometric method for the determination of arginase activity, *Biochem. Med.* **33**, 367-371
- PALLAUF, J., D. HÖHLER, G. RIMBACH (1992): Effekt einer Zulage an mikrobieller Phytase zu einer Mais-Soja-Diät auf die scheinbare Absorption von Mg, Fe, Cu, Mn und Zn sowie auf Parameter des Zinkstatus beim Ferkel, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **68**, 1-9
- PALLAUF, J., K. BRANDT, V. HEINEMANN (1993): Extent of manganese depletion in blood, milk and organs of female rabbits fed a manganese deficient diet over four reproductive cycles in M. Anke: Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8, Media Touristik Verlag, Gersdorf, 296-300
- PALLAUF, J., S. PIPPIG (1997): Effect of phytic acid and phytase on the bioavailability of iron in rats and piglets in P.W.F Fischer., M.R. L'Abbe, K.A. Cockell, R.S. G: Trace Elements in Man an Animals - TEMA 9, NRC Research Press, Ottawa, 27-28
- PAPAVASILIOU, P.S., S.T. MILLER, G.C. COTZIAS (1966): Role of the liver in regulating, distribution and excretion of manganese, *Am. J. Physiol.* **211**, 211-216
- PARKER, G.J., C.J. HANDLEY, H.C. ROBINSON (1995): An assay for galactosyltransferase-I activity in articular cartilage, *Anal. Biochem.* **226**, 154-160
- PAYNTER, D.I. (1980): Changes in activity of the manganese superoxide dismutase enzyme in tissues of the rat with changes in dietary manganese, *J. Nutr.* **110**, 437-447
- PESKIN, A.V., C.C. WINTERBOURN (2000): A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1), *Clin. Chim. Acta.* **293**, 157-166
- PETRIDES, P.E. (1997): Binde- und Stützgewebe in Löffler G., P.E. Petrides: Biochemie und Pathobiochemie, 5. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 733-759
- PLONAIT, H. (1997): Lehrbuch der Schweinekrankheiten, 2. neubearbeitete Auflage, Parey-Verlag, Berlin
- PLUMLEE, M.P., D.M. THRASHER, W.M. BEESON, F.N. ANDREWS, H.E. PARKER (1956): The effect of a manganese deficiency upon the growth, development and reproduction of swine, *J. Anim. Sci.* **15**, 352-367

- PRZYBILLA, P. (1988): Untersuchungen zum Stoffwechsel des Mangans bei Ratte und Kaninchen, Diss. agr., Gießen
- PRZYBILLA, P., J. PALLAUF (1991): Studies on manganese deficiency in the growing rat, *Agribiol. Res.* **44**, 63-69
- REHNER, G., H.D. CREMER (1970): Zur Ermittlung des Spurenelementbedarfs durch Bestimmung der Enzymaktivitäten, *Nahrung* **14**, 193-201
- REHNER, D., H.D. STELTE (1970): Einfluß von Mangan, Kobalt und Nickel auf die Aktivität der Leberarginase in vitro und in vivo, *Medizin und Ernährung* **11**, 32-35
- RHEAUME, J.A., E.R. CHAVEZ (1989): Trace mineral metabolism in non-gravid, gestating and lactating gilts fed two dietary levels of manganese, *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **3**, 231-242
- ROGER, R.J., J.M. MONNIER, H.S. NICK (2001): Tumor necrosis factor-alpha selectively induces MnSOD expression via mitochondria-to-nucleus signaling, whereas interleukin-1 β utilizes an alternative pathway, *J. Biol. Chem.* **276**, 20419-20427
- ROGNSTAD, R. (1981): Manganese effects on gluconeogenesis, *J. Biol. Chem.* **25**, 1608-1610
- RORSMAN, P., P.-O. BERGGREN, B. HELLMAN (1982): Manganese accumulation on pancreatic β -cells and its stimulation by glucose, *Biochem. J.* **202**, 435-444
- ROSEBROUGH, R.W., A.D. MITCHELL, M.P. RICHARDS, N.C. STEELE, J.P. McCURTY (1987): Effect of dietary protein status on urea metabolism and hepatic arginase activity of the pig, *Nutr. Res.* **7**, 547-556
- SCHEIDELER, S. E. (1991): Interaction of dietary calcium, manganese, and manganese source (Mn oxide or Mn methionine complex) on chick performance and manganese utilization, *Biol. Trace Elem. Res.* **29**, 217-227
- SCHEUHAMMER, A.M., M.G. CHERIAN MG (1985): Binding of manganese in human and rat plasma, *Biochim. Biophys. Acta* **840**, 163-169
- SCHRÖTER, W., K.H. LAUTENSCHLÄGER, H. BIBRACK (1985): Chemie Fakten und Gesetze, 13 Auflage, Buch und Zeit Verlag, Köln
- SCRUTTON, M.C., P. GRIMMINGER, J.C. WALLACE (1972): Pyruvate carboxylase. Bound metal content of the vertebrate liver enzyme as a function of diet and species, *J. Biol. Chem.* **247**, 330-3313
- SHILS, M.E., E.V. McCOLLUM (1943): Further studies on the symptoms of manganese deficiency in the rat and mouse, *J. Nutr.* **26**, 1-19
- SHRADER, R.E., L.C. ERWAY, L.S. HURLEY (1973): Mucopolysaccharide synthesis in the developing inner ear of manganese-deficient and pallid mutant mice, *Teratology* **8**, 257-266
- SHRADER, R.E., G.J. EVERSON (1967): Anomalous development of otoliths associated with postural defects in manganese-deficient guinea-pigs, *J. Nutr.* **91**, 453-460
- SKOOG, D.A., J.J. LEARY (1996): Instrumentelle Analytik: Grundlagen - Geräte - Anwendungen, Springer-Verlag, Berlin
- SOUICI, S. W., W. FACHMANN, H. KRAUT (2000): Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen., Medpharm-Verlag, Stuttgart

- STALEY, G.P., J.J. VAN DER LUGT, G. AXSEL, A.H. LOOCK (1994): Congenital skeletal malformations in Holstein calves associated with putative manganese deficiency, *J. S. Afr. Vet. Assoc.* **65**, 73-78
- STALLJOHANN, G. (2003): Schweinehaltung in Landwirtschaftskammer Westfalen-Lippe: Lehr- und Versuchsanstalt für Tier- und Pflanzenproduktion, Haus Düsse, Berichte und Versuchsergebnisse 2003, Bad Sassendorf,
- SUGAWARA, N., D. LI, C. SUGAWARA (1994): Biliary excretion of exogenous cadmium and manganese in long-evans cinnamon (LEC) rats characterized by an inherently gross amount of copper-metallothionein in the liver, *Arch. Toxicol.* **98**, 520-523
- SUGAWARA, N., Y. LAI, M. YUASA, S.K. DHAR, K. ARIZONO (1996): Biliary excretion of copper, manganese, and horseradish peroxidase in Eisai hyperbilirubinemic mutant rats (EHBRs) with defective biliary excretion of glutathione, *Biol. Trace. Elem. Res.* **55**, 181-189
- SUGINO, N., Y. NAKAMURA, O. TAKEDA, M. ISHIMATSU, H. KATO (1993): Changes in activities of superoxide dismutase and lipid peroxide in corpus luteum during pregnancy in rats, *J. Reprod. Fertil.* **91**, 347-351
- SUGINO, N., S. TAKIGUCHI, S. KASHIDA, A. KARUBE, Y. NAKAMURA, H. KATO (2000): Superoxid dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy, *Mol. Hum. Reprod.* **6**, 19-25
- SUN, Y., L.W. OBERLEY, Y. LI (1988): A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clin. Chem.* **34**, 497-500
- TAKIGUCHI, S., N. SUGINO, S. KASHIDA, Y. YAMAGATA, Y. NAKAMURA, H. KATO (2000): Rescue of the corpus luteum and an increase in luteal superoxide dismutase expression induced by placental luteotropins in the rat: action of testosterone without conversion to estrogen, *Biol. Reprod.* **62**, 398-403
- THEOCHARIS, A.D., M.E. TSARA, N. PAPAGEORGAKOPOULOU, D.H. VYNIOS, D.A. THEOCHARIS (2001): Characterization of glycosaminoglycans from human normal and scoliotic nasal cartilage with particular reference to dermatan sulfate, *Biochim. Biophys. Acta* **1528**, 81-88
- THOMSON, A.B.R., D. OLATUNBOSUM, L. VALBERG (1971): Interrelation of intestinal transport system of manganese and iron, *J. Lab. Clin. Med.* **78**, 643-655
- TICHY, M., M. CIKRT (1972): Manganese transfer into the bile in rats, *Arch. Toxikol.* **29**, 51-58
- TRUEB, L.F. (1996): Mangan in TRUEB, L.F.: Die chemischen Elemente, Ein Streifzug durch das Periodensystem, S. Hirzel Verlag, Leipzig, 143-147
- UKEDA, H., S. MAEDA, T. ISHII, M. SAWAMURA (1997): Spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on tetrazolium salt 3'-1--(phenylamino)-carbonyl--3, 4-tetrazolium]-bis(4-methoxy-6-nitro)benzenesulfonic acid hydrate reduction by xanthine-xanthine oxidase, *Anal. Biochem.* **251**, 206-209
- VALERO, G., M.R. ALLEY, L.M. BADCOE, B.W. MANKTELOW, M. MERRAL, G.S. LOWES (1990): Chondrodystrophy in calves associated with manganese deficiency, *N. Z. Vet. J.* **38**, 161-167
- WEDEKIND, K.J., E.C. TITGEMEYER, A.R. TWARDOCK, D.H. BAKER (1991a): Phosphorus, but not calcium, affects manganese absorption and turnover in chicks, *J. Nutr.* **121**, 1776-1786

- WEDEKIND, K.J., D.H. BAKER (1990a): Manganese utilization in the chicks as affected by excess calcium and phosphorus ingestion, *Poult. Sci.* **69**, 977-984
- WEDEKIND, K.J., D.H. BAKER (1990b): Effects of varying calcium and phosphorus level on manganese utilization, *Poult. Sci.* **69**, 1156-1164
- WEIGAND, E., M. KIRCHGESSNER, U. HELBIG (1986a): Comparison of isotope techniques for determining true absorption of dietary manganese in growing rats, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **56**, 24-35
- WEIGAND, E., U. HELBIG, M. KIRCHGESSNER (1986b): Radioisotope-dilution technique for determining endogenous manganese in feces of the growing rat, *Biol. Trace Elem. Res.* **10**, 281-292
- WEISIGER, R.A., I. FRIDOVICH (1973): Superoxide dismutase. Organelle specificity, *J. Biol. Chem.* **248**, 3582-3592
- WILGUS, H. S. JR, L. C. NORRIS, G. F. HEUSER (1936): The role of certain inorganic elements in the cause and prevention of perosis, *Science* **84**, 252
- WILGUS, H.S., A.R. PATTON (1939): Factors affecting manganese utilization in the chicken, *J. Nutr.* **18**, 35-45
- WINDISCH, W., M. KIRCHGESSNER (1996): Zum Effekt von Phytase auf die scheinbare Verdaulichkeit und Gesamtverwertung von Eisen, Kupfer, Zink und Mangan bei abgestufter Ca- Versorgung in der Ferkelaufzucht und in der Broilermast, *Agribiol. Res.* **49**, 23-29
- WONG, G.H., D.V. GOEDDEL (1988): Induction of manganous superoxide dismutase by tumor necrosis factor: possible protective mechanism, *Science* **242**, 941-944
- YANG, P., D.J. KLIMIS-TAVANTZIS (1998): Effects of dietary manganese on arterial glycosaminoglycan metabolism in Sprague-Dawley rats, *Biol. Trace Elem. Res.* **64**, 275-288
- ZACHARIAS, B. (1997): Zum Einfluß von mikrobieller Phytase und Calcium auf die Blei-, Cadmium- und Zinkretention beim wachsenden Schwein, Diss. agr., Hohenheim
- ZIDENBERG-CHERR, S., C.L. KEEN, B. LÖNNERDAL, L.S. HURLEY (1983): Superoxid dismutase activity and lipid peroxidation in the rat: Developmental correlations affected by manganese deficiency, *J. Nutr.* **113**, 2498-2504

Anhang

Anhangstabelle 1: Mineralstoffgehalte in ausgewählten Futterkomponenten für teilsynthetische Rationen analysiert mittels ICP-AES nach Trockenveraschung

<i>Probe</i>	<i>Calcium</i>	<i>Magnesium</i>	<i>Phosphor</i>	<i>Eisen</i>	<i>Kupfer</i>	<i>Mangan</i>	<i>Zink</i>
	<i>g/kg FM</i>	<i>mg/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>mg/kg FM</i>	<i>mg/kg FM</i>	<i>mg/kg FM</i>	<i>mg/kg FM</i>
<i>Bestimmungsgrenze</i>	0,02	0,02	0,05	0,50	0,20	0,20	0,20
Weizen	0,19	0,556	2,13	22,10	2,10	21,70	18,70
Sprühmagermilchpulver Moha Charge 415	9,93	1,036	8,19	1,75	0,48	0,28	38,44
Sprühmagermilchpulver Moha Charge 416	10,59	0,943	8,89	1,97	0,58	0,28	32,18
Sprühmagermilchpulver Moha Charge 417	11,08	0,874	9,17	1,39	0,53	0,24	32,59
Casein getr.	0,66	0,062	1,71	2,34	u.N.	u.N.	43,53
Maisstärke Roquette	0,08	u.N. ¹	0,19	1,23	u.N.	u.N.	0,92
Maisstärke Amylum	u.N.	u.N.	0,16	2,16	u.N.	u.N.	u.N.
Glucose	u.N.	u.N.	u.N.	0,61	u.N.	u.N.	u.N.
Zellulose Rettenmeyer Bww 40	0,61	0,149	u.N.	7,35	0,26	0,84	u.N.
Zellulose Rettenmeyer BC 1000	0,39	0,085	u.N.	2,12	0,23	0,31	u.N.
Zellulose Rettenmeyer BC 1000 MD	0,39	0,112	u.N.	2,80	0,36	0,29	u.N.
L-Threonin	0,02	u.N.	u.N.	2,11	u.N.	0,36	u.N.
DL-Methionin 80%	0,19	u.N.	u.N.	1,86	u.N.	u.N.	u.N.

¹ Unterhalb der Nachweisgrenze

Anhangstabelle 2: *Mangengehalte ausgewählter Mineralstoffträger und von Cholinchlorid analysiert mittels ICP-AES nach Lösen in 0,3 N HCl*

<i>Probe</i>	<i>Strukturformel</i>	<i>Mangan</i> <i>mg/kg FM</i>
Bestimmungsgrenze		0,50
Natriumdihydrogenphosphat	NaH ₂ PO ₄	u.N.
Eisen-(III)-chlorid Fa. Merck	FeCl ₃ x 6 H ₂ O	0,55
Zinksulfat	ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	1,00
Kupfersulfat	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,50
Eisensulfat	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	288,20
Eisenfumarat ²	C ₄ H ₂ FeO ₄	88,00
Magnesiumsulfat	MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,87
Kaliumhydrogen phosphat	K ₂ HPO ₄	u.N.
Kochsalz	NaCl	u.N.
Calciumformiat	Ca(HCO ₂) ₂	52,50
Calcimcarbonat	CaCO ₃	0,50
Cholinchlorid ¹		u.N.

² Da die Verbindung nicht vollständig löslich war, wurde die Probe trockenverascht

Anhangstabelle 3: *Mangengehalte von verschiedenen Futtermitteln, Eiseninjektionslösungen und Eisen-Vitamin-Präparaten für Ferkel analysiert mittels Flammen-AAS nach Trockenveraschung*

<i>Probe</i>	<i>Mangan</i> <i>mg/kg FM</i>
Rettenmeyer Zellulose Arbocel BWW40	0,66
Sprühmagermilchpulver Moha Carge 415	0,17
Sprühmagermilchpulver Moha Carge 416	0,18
Cranwean (Fa. Cranswick, Münster)	84,21
Quickstart Prestarter (Fa. Vandeberg, Grossenlueder)	14,62
Medifer 200 (Fa. Medistar)	127,13
Ursoferan 100 (Fa. BERNA Veterinärprodukte, Bern, Schweiz)	4,42
Ferriphor 10 (Fa. Provet AG, Lyssach, Schweiz)	90,95
Bio-Weyxin 705 K-VE (Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn)	190,59
Bio-Weyxin Fe-Vit-Do (Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn)	117,52

Anhangstabelle 4: Mangangehalte in Vormischungen analysiert mittels Flammen-AAS nach Trockenveraschung

<i>Probe</i>	<i>Soll</i>	<i>Analysenwert</i>	<i>Wiederfindung</i>
	<i>mg Mn/kg FM</i>	<i>mg Mn/kg FM</i>	
Bestimmungsgrenze		0,09	
Mengenelementvormischung	-	u.N.	-
Vitaminvormischung	-	0,22	-
Spurenelementvormischung	-	0,28	-
Manganvormischung 02	360	323,5	89,9%
Manganvormischung 04	770	676,8	87,9%
Manganvormischung 08	1560	1493,7	95,7%
Manganvormischung 16	3160	3122,3	98,8%
Manganvormischung 32	6360	5998,3	94,3%

Anhangstabelle 5: Ergebnisse der Analyse der Rohnährstoffe in den Versuchsdiäten und geschätzte metabolisierbare Energie

<i>Probe</i>	<i>TM</i>	<i>XA</i>	<i>XP</i>	<i>XL</i>	<i>XS</i>	<i>XZ</i>	<i>ME¹</i>
	<i>g/kg</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>g/kg FM</i>	<i>MJ ME/kg FM</i>
Starterfutter Mn-00	937,1	57,7	191,0	43,8	244,2	218,0	14,48
Starterfutter Mn-02	936,6	58,0	191,0	42,8	239,0	214,4	14,37
Starterfutter Mn-04	935,5	57,5	190,6	38,9	250,0	208,0	14,31
Starterfutter Mn-08	938,4	57,4	193,2	40,9	239,1	216,4	14,40
Starterfutter Mn-16	939,2	57,7	189,2	39,5	233,7	224,0	14,33
Starterfutter Mn-32	942,5	57,7	189,9	39,4	233,7	212,3	14,26
Ferkelfutter Mn-00	928,4	52,4	149,4	41,8	281,5	172,2	13,74
Ferkelfutter Mn-02	924,9	52,0	139,4	41,8	298,9	181,7	13,81
Ferkelfutter Mn-04	928,8	52,9	155,3	40,9	276,6	177,4	13,80
Ferkelfutter Mn-08	927,9	53,0	150,3	39,3	292,9	178,1	13,84
Ferkelfutter Mn-16	931,3	51,3	145,0	41,7	296,2	183,5	13,94
Ferkelfutter Mn-32	930,7	52,8	148,4	41,9	292,9	179,1	13,90

¹ Geschätzt nach GfE-Formel(1987):

$$\text{ME (MJ/kg)} = 0,0218 \text{ XP} + 0,0314 \text{ XL} + 0,0171 \text{ XS} + 0,0169 \text{ XZ} \\ + 0,0081 (\text{TM} - \text{XA} - \text{XP} - \text{XL} - \text{XS} - \text{XZ} - \text{ADF}) - 0,0066 \text{ ADF} \\ (\text{alle Rohnährstoffe in g/kg})$$

Anhangstabelle 6: Mineralstoffe in teilsynthetischen Versuchsdiäten analysiert mittels ICP-AES nach Trockenveraschung

Diät	Mn	Charge	Ca	Mg	P	Fe	Cu	Zn	Mn
	Stufe	kg	g/kg	mg/kg	g/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Sollwerte	Starter		8,90	500,00	7,20	150,00	10,00	128,00	s. Stufe
Sollwerte	Ferkel		8,30	500,00	6,70	152,00	10,00	126,00	s. Stufe
Starter	0	33	8,68	543,12	7,46	164,13	5,86	107,78	0,29
Ferkelfutter Ch. 1	0	110	8,75	550,73	7,53	135,85	6,74	96,90	0,28
Ferkelfutter Ch. 2	0	110	8,45	508,44	7,42	118,46	10,54	141,47	0,20
Ferkelfutter Ch. 3	0	110	8,34	496,18	7,26	92,52	10,59	109,47	0,22
Starter	2	33	8,66	542,71	7,48	112,89	5,01	91,90	1,55
Ferkelfutter Ch. 1	2	110	8,08	484,69	6,88	118,04	10,07	102,63	2,36
Ferkelfutter Ch. 2	2	110	7,82	460,50	6,66	110,23	7,29	106,12	1,71
Ferkelfutter Ch. 3	2	110	8,53	509,28	7,36	127,13	15,42	124,50	1,45
Starter	4	33	8,75	552,75	7,49	105,63	5,38	89,85	3,43
Ferkelfutter Ch. 1	4	110	8,04	488,14	6,92	163,54	12,10	141,58	4,72
Ferkelfutter Ch. 2	4	110	7,78	453,84	6,53	102,49	5,22	92,90	4,27
Ferkelfutter Ch. 3	4	110	8,50	507,75	7,19	116,92	8,68	106,87	3,12
Starter	8	33	9,04	561,85	7,66	104,56	6,69	91,86	7,78
Ferkelfutter Ch. 1	8	110	8,43	507,88	7,27	118,76	4,53	101,67	10,41
Ferkelfutter Ch. 2	8	110	8,17	484,04	7,18	130,25	12,40	106,43	6,14
Ferkelfutter Ch. 3	8	110	8,51	535,76	7,25	108,56	9,50	102,31	6,60
Starter	16	33	8,99	554,41	7,64	133,67	4,92	125,41	15,03
Ferkelfutter Ch. 1	16	110	8,29	497,17	7,12	127,85	5,69	112,15	16,69
Ferkelfutter Ch. 2	16	110	8,12	486,47	7,11	132,79	4,67	101,91	12,98
Ferkelfutter Ch. 3	16	110	8,55	516,67	7,64	127,77	3,54	119,18	14,29
Starter	32	33	8,90	551,22	7,70	94,13	2,73	90,20	31,98
Ferkelfutter Ch. 1	32	110	8,28	497,91	7,17	133,09	9,13	111,32	28,90
Ferkelfutter Ch. 2	32	110	8,30	483,19	7,29	122,95	4,66	87,65	26,86
Ferkelfutter Ch. 3	32	110	7,52	457,60	6,54	99,46	3,28	79,42	31,07

Anhangstabelle 7: Lebendmasse der Ferkel vor Beginn der Eingewöhnungsphase und während des Versuchs

Gruppe	Küfig	Ohrmarke	Gewichte/kg							
			Versuchstag:	Eingew. ¹	1	8	15	22	29	36
Mn-00	1	29	5,40	6,11	6,69	8,86	12,51	16,57	21,66	25,70
	2	27	6,20	6,82	6,81	8,54	11,90	15,89	20,69	25,30
	3	31	6,05	6,94	7,03	9,59	12,87	17,08	22,06	26,62
	4	36	6,10	7,05	7,46	8,73	12,14	16,47	21,52	25,79
	5	14	6,81	7,53	8,04	10,90	14,89	19,66	25,03	28,53
	6	40	7,40	8,31	8,66	10,98	15,22	19,58	24,81	28,82
	M		6,33	7,13	7,45	9,60	13,26	17,54	22,63	26,79
	SD		0,69	0,74	0,77	1,10	1,44	1,65	1,83	1,52
Mn-02	7	23	6,10	6,29	6,85	8,40	11,68	14,65	19,76	24,73
	8	10	6,25	6,66	7,34	8,73	11,93	16,00	20,75	25,31
	9	37	6,20	6,96	7,29	9,17	12,47	16,70	21,43	25,35
	10	7	6,25	7,18	7,65	9,85	13,34	17,74	22,33	26,56
	11	11	7,30	7,62	8,19	10,40	13,74	18,12	23,23	28,75
	12	20	7,80	8,41	9,51	11,82	15,86	19,97	25,46	30,30
	M		6,65	7,19	7,81	9,73	13,17	17,20	22,16	26,83
	SD		0,72	0,75	0,95	1,26	1,54	1,84	2,02	2,22
Mn-04	13	12	6,36	6,30	6,70	8,44	11,63	15,55	20,29	25,34
	14	15	6,60	6,74	7,71	9,95	13,36	17,69	22,53	27,51
	15	2	6,65	6,84	7,77	9,49	13,42	17,74	23,09	27,62
	16	33	6,45	7,19	7,93	10,31	13,71	17,58	23,43	26,84
	17	19	7,45	7,65	8,06	10,04	13,86	18,59	23,76	28,90
	18	18	7,50	9,04	9,31	11,93	15,75	20,38	25,77	30,69
	M		6,84	7,29	7,91	10,03	13,62	17,92	23,15	27,82
	SD		0,51	0,97	0,84	1,14	1,32	1,57	1,78	1,82
Mn-08	19	16	6,00	6,40	6,71	8,69	12,09	16,27	21,48	25,17
	20	24	6,15	6,77	6,87	8,41	11,33	15,17	19,09	22,73
	21	38	6,10	6,88	7,41	8,92	12,86	16,76	21,80	27,23
	22	26	6,30	7,00	7,30	8,69	11,52	15,70	20,95	26,67
	23	41	7,00	8,02	8,36	10,27	13,82	18,23	23,75	28,85
	24	13	7,80	8,92	9,63	11,89	15,86	19,61	24,18	28,70
	M		6,56	7,33	7,71	9,48	12,91	16,96	21,88	26,56
	SD		0,71	0,95	1,10	1,35	1,71	1,67	1,88	2,32
Mn-16	25	32	5,80	6,50	7,06	9,54	13,05	17,37	21,79	26,70
	26	4	6,90	6,80	7,53	9,84	13,71	17,92	23,38	28,40
	27	42	6,10	6,91	7,06	9,39	13,41	18,10	23,41	28,00
	28	28	6,58	7,03	7,52	9,61	13,45	17,28	21,89	25,50
	29	35	7,10	7,28	8,18	10,40	14,47	18,06	22,58	26,20
	30	8	8,60	8,98	9,94	12,10	15,10	18,47	23,07	28,50
	M		6,85	7,25	7,88	10,15	13,87	17,87	22,69	27,22
	SD		0,99	0,89	1,09	1,02	0,77	0,46	0,72	1,26
Mn-32	31	1	5,70	6,80	6,94	9,00	12,99	17,50	22,47	28,40
	32	30	6,35	6,96	7,19	8,94	11,94	16,11	20,30	25,70
	33	25	6,40	6,92	7,33	9,31	12,74	16,85	22,02	27,80
	34	9	5,83	7,03	7,42	9,74	13,85	17,62	23,15	28,40
	35	21	6,50	7,38	7,86	10,56	14,75	18,43	22,57	27,10
	36	22	7,25	8,26	8,61	11,10	15,17	19,32	24,18	28,10
	M		6,34	7,23	7,56	9,78	13,57	17,64	22,45	27,58
	SD		0,55	0,54	0,60	0,88	1,24	1,13	1,29	1,04
Gesamt	M		6,59	7,24	7,72	9,79	13,40	17,52	22,49	27,13
	SD		0,69	0,76	0,86	1,08	1,31	1,40	1,58	1,69

¹ Tag 1 der Eingewöhnungsphase

Anhangstabelle 8: *Tägliche Zunahmen der Ferkel in der Eingewöhnungsphase und im Versuchszeitraum*

Gruppe	Küfig	Ohrmarke	Tägliche Zunahme in g/d						
			Versuchstag: Eingew.	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6
Mn-00	1	29	142	83	310	521	581	727	577
	2	27	123	-1	248	480	570	686	658
	3	31	177	14	366	468	602	711	652
	4	36	190	59	181	488	618	722	610
	5	14	143	73	410	569	682	766	501
	6	40	182	49	332	607	622	747	574
	M		160	46	308	522	613	727	595
SD		27	33	83	55	40	28	58	
Mn-02	7	23	38	81	221	469	424	730	711
	8	10	82	97	199	457	582	678	652
	9	37	153	46	269	472	604	676	559
	10	7	186	67	314	498	629	656	604
	11	11	63	82	315	477	626	730	789
	12	20	122	157	330	577	588	784	692
	M		107	88	275	492	576	709	668
SD		56	38	55	44	77	48	82	
Mn-04	13	12	-11	57	248	456	560	677	721
	14	15	28	139	319	488	618	692	711
	15	2	39	132	247	561	617	765	647
	16	33	148	106	339	487	552	837	487
	17	19	41	58	282	546	676	738	734
	18	18	307	39	374	546	662	770	702
	M		92	89	302	514	614	747	667
SD		118	43	51	42	51	58	93	
Mn-08	19	16	79	45	283	485	596	745	526
	20	24	123	14	220	418	548	559	520
	21	38	156	76	216	563	557	720	776
	22	26	141	42	199	404	598	750	816
	23	41	205	48	273	507	630	789	728
	24	13	224	101	323	567	536	653	645
	M		155	54	252	491	578	703	669
SD		53	30	48	70	36	84	126	
Mn-16	25	32	139	81	354	502	618	631	702
	26	4	-20	104	331	553	600	780	718
	27	42	161	22	333	574	670	758	656
	28	28	89	70	298	548	547	659	516
	29	35	35	129	318	581	513	645	518
	30	8	76	137	309	427	483	656	776
	M		80	91	324	531	572	688	648
SD		67	43	20	58	70	64	108	
Mn-32	31	1	220	19	295	570	645	710	847
	32	30	121	34	250	427	596	599	771
	33	25	104	59	282	491	588	738	826
	34	9	240	56	331	588	538	790	750
	35	21	176	69	385	599	525	591	647
	36	22	202	49	357	582	593	694	560
	M		177	48	317	543	581	687	734
SD		55	18	50	69	44	78	110	
Gesamt	M		128	69	296	515	589	710	663
	SD		74	38	56	57	54	62	100

Anhangstabelle 9: Tägliche vorgelegte Futtermenge während der Versuchsphase

<i>Tag / Woche</i>	<i>Futternvorlage in g/d</i>						
	<i>Mo</i>	<i>Di</i>	<i>Mi</i>	<i>Do</i>	<i>Fr</i>	<i>Sa</i>	<i>So</i>
Woche 1	170	170	200	225	260	290	330
Woche 2	370	400	430	460	510	570	630
Woche 3	690	750	810	850	900	950	1000
Woche 4	1000	1000	1000	1100	1100	1100	1100
Woche 5	1200	1200	1200	1300	1300	1300	1300
Woche 6	1300	1300	1300	1400	1400	1400	1400
Woche 7	1400 ¹	1400	1400	- ²			

¹ Ende der Versuchsperiode

² Tag der Schlachtung

Anhangstabelle 10: Tägliche Futtermittelaufnahme der Ferkel, jeweils als Mittelwerte der einzelnen Versuchswochen

Gruppe	Küfig	Ohrmarke	Futtermittelaufnahme g/d						
			Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6	Woche 7
Mn-00	1	29	0,145	0,356	0,695	0,840	0,944	0,987	0,955
	2	27	0,122	0,305	0,622	0,756	0,942	0,998	0,900
	3	31	0,131	0,290	0,670	0,874	0,960	1,002	0,969
	4	36	0,132	0,271	0,648	0,860	0,931	0,905	0,784
	5	14	0,165	0,429	0,728	0,944	1,042	0,884	0,783
	6	40	0,126	0,424	0,704	0,921	1,043	0,996	0,803
	M		0,137	0,346	0,678	0,866	0,977	0,962	0,661
	SD		0,016	0,069	0,039	0,066	0,052	0,053	0,034
Mn-02	7	23	0,146	0,292	0,578	0,732	1,044	1,167	0,991
	8	10	0,173	0,288	0,625	0,869	1,040	1,121	0,931
	9	37	0,156	0,348	0,637	0,893	1,080	1,006	0,886
	10	7	0,183	0,395	0,654	0,864	0,951	0,880	0,757
	11	11	0,158	0,360	0,607	0,916	1,038	1,188	0,746
	12	20	0,198	0,407	0,746	0,933	1,029	1,176	0,892
	M		0,169	0,348	0,641	0,868	1,030	1,090	0,691
	SD		0,019	0,050	0,058	0,072	0,043	0,123	0,035
Mn-04	13	12	0,108	0,306	0,595	0,788	1,026	1,139	0,936
	14	15	0,161	0,410	0,619	0,885	1,095	1,227	1,020
	15	2	0,182	0,343	0,675	0,918	1,033	1,019	0,917
	16	33	0,177	0,389	0,660	0,830	0,971	0,948	0,899
	17	19	0,160	0,387	0,728	0,910	1,045	1,046	0,928
	18	18	0,214	0,452	0,708	0,953	1,068	1,105	0,832
	M		0,167	0,381	0,664	0,881	1,040	1,081	0,702
	SD		0,035	0,051	0,051	0,061	0,042	0,098	0,037
Mn-08	19	16	0,141	0,361	0,615	0,874	1,042	0,903	0,777
	20	24	0,100	0,267	0,520	0,742	0,820	0,740	0,810
	21	38	0,169	0,322	0,659	0,843	1,053	1,217	0,994
	22	26	0,136	0,228	0,474	0,893	1,016	1,204	0,951
	23	41	0,132	0,305	0,682	0,942	1,081	0,980	0,840
	24	13	0,151	0,414	0,722	0,881	1,038	1,018	0,956
	M		0,138	0,316	0,612	0,863	1,008	1,010	0,658
	SD		0,023	0,066	0,097	0,067	0,095	0,182	0,066
Mn-16	25	32	0,162	0,400	0,666	0,825	0,959	0,995	0,937
	26	4	0,137	0,364	0,685	0,905	1,084	1,197	1,037
	27	42	0,116	0,412	0,715	0,940	1,124	1,198	1,006
	28	28	0,144	0,365	0,734	0,861	0,962	0,833	0,768
	29	35	0,185	0,387	0,756	0,903	0,995	0,834	0,823
	30	8	0,176	0,425	0,664	0,728	1,029	1,212	1,046
	M		0,153	0,392	0,703	0,860	1,026	1,045	0,697
	SD		0,026	0,025	0,038	0,076	0,067	0,182	0,039
Mn-32	31	1	0,123	0,397	0,722	0,859	1,008	1,157	0,941
	32	30	0,163	0,297	0,584	0,826	0,824	1,148	0,891
	33	25	0,116	0,349	0,658	0,859	1,060	1,105	0,743
	34	9	0,158	0,400	0,717	0,923	1,110	1,262	0,859
	35	21	0,189	0,415	0,718	0,810	0,899	0,987	0,707
	36	22	0,136	0,423	0,762	0,858	1,028	1,082	0,802
	M		0,148	0,380	0,694	0,856	0,988	0,000	0,698
	SD		0,028	0,048	0,063	0,039	0,107	0,091	0,042
Gesamt	M		0,152	0,361	0,665	0,866	1,012	1,052	0,684
	SD		0,027	0,056	0,065	0,060	0,071	0,132	0,044

Anhangstabelle 11: Futterverwertung durch die Ferkel jeweils als Mittelwerte der einzelnen Versuchswochen und über die gesamte Versuchsdauer.

Gruppe	Küfig	Ohrmarke	Futterverwertung / g Futteraufnahme pro g Zuwachs						Gesamt
			Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6	
Mn-00	1	29	1,74	1,15	1,33	1,45	1,30	1,71	1,42
	2	27	(-142,00) ¹	1,23	1,30	1,33	1,37	1,52	1,42
	3	31	9,65	0,79	1,43	1,45	1,35	1,54	1,40
	4	36	2,24	1,50	1,33	1,39	1,29	1,48	1,40
	5	14	2,25	1,05	1,28	1,38	1,36	1,77	1,40
	6	40	2,57	1,28	1,16	1,48	1,40	1,74	1,44
	M			3,69	1,17	1,31	1,41	1,35	1,63
SD			3,35	0,24	0,09	0,06	0,04	0,13	0,02
Mn-02	7	23	1,82	1,32	1,23	1,73	1,43	1,64	1,50
	8	10	1,79	1,45	1,37	1,49	1,53	1,72	1,54
	9	37	3,41	1,29	1,35	1,48	1,60	1,80	1,57
	10	7	2,73	1,26	1,31	1,37	1,45	1,46	1,42
	11	11	1,93	1,14	1,27	1,46	1,42	1,51	1,41
	12	20	1,26	1,23	1,29	1,59	1,31	1,70	1,44
	M			2,16	1,28	1,30	1,52	1,46	1,64
SD			0,78	0,10	0,05	0,13	0,10	0,13	0,07
Mn-04	13	12	1,91	1,23	1,31	1,41	1,51	1,58	1,46
	14	15	1,16	1,28	1,27	1,43	1,58	1,73	1,48
	15	2	1,38	1,39	1,20	1,49	1,35	1,57	1,40
	16	33	1,67	1,15	1,36	1,50	1,16	1,95	1,42
	17	19	2,74	1,37	1,33	1,35	1,42	1,43	1,41
	18	18	5,54	1,21	1,30	1,44	1,39	1,57	1,46
	M			2,16	1,28	1,30	1,52	1,46	1,64
SD			0,78	0,10	0,05	0,13	0,10	0,13	0,07
Mn-08	19	16	3,15	1,27	1,27	1,47	1,40	1,72	1,47
	20	24	7,06	1,21	1,24	1,35	1,47	1,42	1,40
	21	38	2,22	1,49	1,17	1,51	1,46	1,57	1,47
	22	26	3,25	1,15	1,17	1,49	1,35	1,48	1,41
	23	41	2,75	1,12	1,35	1,50	1,37	1,35	1,39
	24	13	1,49	1,28	1,27	1,64	1,59	1,58	1,50
	M			3,32	1,25	1,25	1,49	1,44	1,52
SD			1,94	0,13	0,07	0,09	0,09	0,13	0,05
Mn-16	25	32	2,01	1,13	1,33	1,34	1,52	1,42	1,39
	26	4	1,32	1,10	1,24	1,51	1,39	1,67	1,42
	27	42	5,22	1,24	1,25	1,40	1,48	1,83	1,49
	28	28	2,05	1,22	1,34	1,57	1,46	1,61	1,48
	29	35	1,43	1,22	1,30	1,76	1,54	1,61	1,50
	30	8	1,28	1,37	1,55	1,51	1,57	1,56	1,52
	M			2,22	1,21	1,34	1,52	1,49	1,62
SD			1,51	0,10	0,11	0,15	0,06	0,13	0,05
Mn-32	31	1	6,40	1,35	1,27	1,33	1,42	1,37	1,38
	32	30	4,77	1,19	1,37	1,38	1,37	1,49	1,43
	33	25	1,97	1,24	1,34	1,46	1,44	1,34	1,39
	34	9	2,82	1,21	1,22	1,72	1,40	1,68	1,50
	35	21	2,74	1,08	1,20	1,54	1,52	1,53	1,43
	36	22	2,75	1,19	1,31	1,45	1,48	1,93	1,51
	M			3,58	1,21	1,29	1,48	1,44	1,56
SD			1,67	0,09	0,07	0,14	0,06	0,22	0,05
M			2,87	1,23	1,30	1,48	1,43	1,60	1,45
SD			1,88	0,13	0,08	0,11	0,10	0,15	0,05

¹ Das Tier hat zwar Futter aufgenommen aber minimal abgenommen. Der Wert wurde als Ausreißer bewertet und von der Auswertung ausgeschlossen.

Anhangstabelle 12: Erfasste Kot- und Harnausscheidung in den Sammelphasen

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Sammelphase I		Sammelphase II	
			Kot g FM / 7 d	Urin g FM / 7d	Kot g FM / 7 d	Urin g FM / 7d
Mn-00	1	29	498	6586	670	7032
	2	27	276	6525	541	6684
	3	31	362	6703	325	8748
	4	36	521	4880	170	5389
	5	14	450	6891	628	4856
	6	40	477	6170	687	5038
	M			431	6293	504
	SD		94	732	210	1496
Mn-02	7	23	593	3996	1217	7786
	8	10	731	5652	841	11600
	9	37	733	4642	1197	7660
	10	7	515	7785	479	7069
	11	11	210	5944	548	8713
	12	20	848	6805	616	6058
	M			605	5804	816
	SD		226	1385	326	1905
Mn-04	13	12	564	6986	1376	10829
	14	15	662	4632	1502	9136
	15	2	527	9375	462	10132
	16	33	791	6290	332	8604
	17	19	518	10062	498	13235
	18	18	336	6068	418	5588
	M			566	7236	765
	SD		153	2082	527	2542
Mn-08	19	16	412	7281	709	4501
	20	24	238	4722	563	4783
	21	38	387	6185	580	8891
	22	26	395	5668	849	12123
	23	41	394	6837	695	4740
	24	13	1050	9318	550	8209
	M			479	6669	658
	SD		287	1578	116	3075
Mn-16	25	32	199	8261	465	7694
	26	4	516	8887	667	9025
	27	42	833	7925	1237	8411
	28	28	492	8156	592	3887
	29	35	513	5110	658	3786
	30	8	481	7739	892	11960
	M			506	7680	752
	SD		201	1318	275	3160
Mn-32	31	1	557	8303	468	18826
	32	30	459	5106	1052	6683
	33	25	629	9042	563	13028
	34	9	492	10139	969	14192
	35	21	265	5918	423	8619
	36	22	571	5376	579	4752
	M			496	7314	676
	SD		128	2122	267	5270
Gesamt	M		503	6752	681	8025
	SD		194	1550	255	3440

Anhangstabelle 13: Ergebnisse der Kotuntersuchung: Kottrockenmasse, im Kot enthaltenes Mangan analysiert mittels GFAAS nach Trockenveraschung sowie Manganausscheidung in der Sammelphase II

Gruppe	Küfig	Ohrmarke	Kot g FM	Kot TM g/kg FM	Kot g TM	Kot Mn mg/kg TM	Kot Mn mg/kg FM	Kot Mn mg	
Mn-00	1	29	670	411	276	6,8	2,8	1,9	
	2	27	541	427	231	5,8	2,5	1,3	
	3	31	325	471	153	7,2	3,4	1,1	
	4	36	170	622	106	7,6	4,7	0,8	
	5	14	628	427	268	4,0	1,7	1,1	
	6	40	687	400	275	5,3	2,1	1,5	
	M			504	460	218	6,1	2,9	1,3
			SD	210	83	72	1,4	1,1	0,4
Mn-02	7	23	1217	407	495	22,7	9,2	11,2	
	8	10	841	416	350	27,0	11,2	9,4	
	9	37	1197	399	478	23,3	9,3	11,1	
	10	7	479	346	166	42,1	14,5	7,0	
	11	11	548	457	251	38,0	17,4	9,5	
	12	20	616	398	245	41,4	16,5	10,2	
	M			816	404	331	32,4	13,0	9,7
			SD	326	36	134	9,1	3,6	1,5
Mn-04	13	12	1376	363	500	47,9	17,4	23,9	
	14	15	1502	393	590	49,1	19,3	28,9	
	15	2	462	501	231	70,2	35,1	16,2	
	16	33	332	430	143	97,2	41,8	13,9	
	17	19	498	417	208	85,8	35,8	17,8	
	18	18	418	434	182	83,2	36,1	15,1	
	M			765	423	309	72,2	30,9	19,3
			SD	527	46	187	20,3	10,0	5,9
Mn-08	19	16	709	555	393	102,8	57,0	40,4	
	20	24	563	460	259	133,1	61,2	34,4	
	21	38	580	451	262	139,1	62,8	36,4	
	22	26	849	457	388	120,5	55,1	46,8	
	23	41	695	506	352	110,7	56,0	38,9	
	24	13	550	455	250	131,4	59,7	32,9	
	M			658	481	317	122,9	58,6	38,3
			SD	116	42	68	14,1	3,1	5,0
Mn-16	25	32	465	395	184	323,4	127,7	59,4	
	26	4	667	461	308	280,1	129,3	86,2	
	27	42	1237	415	513	188,8	78,3	96,8	
	28	28	592	443	262	237,2	105,1	62,2	
	29	35	658	417	275	276,6	115,4	76,0	
	30	8	892	372	332	227,4	84,7	75,5	
	M			752	417	312	255,6	106,8	76,0
			SD	275	32	111	47,4	21,5	14,2
Mn-32	31	1	468	423	198	574,6	243,3	113,9	
	32	30	1052	381	401	407,2	155,1	163,2	
	33	25	563	419	236	625,3	262,0	147,5	
	34	9	969	386	374	511,6	197,4	191,2	
	35	21	423	393	166	509,4	200,2	84,7	
	36	22	579	504	292	299,0	150,6	87,2	
	M			676	418	278	487,9	201,4	131,3
			SD	267	46	95	118,0	45,1	43,1
Gesamt	M		695	434	294	162,9	68,9	46,0	
	SD		308	54	116	175,5	72,0	49,0	

Anhangstabelle 14: Scheinbare Verdaulichkeit von Mangan in der 6. Versuchswoche

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Manganaufnahme	faecale Mangan-	scheinbar verdaut	scheinbare
			mg/d	ausscheidung	mg/d	mg/d
			mg/d	mg/d	mg/d	%
Mn-00	1	29	0,23	0,27	-0,04	-17,4
	2	27	0,23	0,19	0,04	17,1
	3	31	0,23	0,16	0,07	31,3
	4	36	0,21	0,12	0,09	44,7
	5	14	0,20	0,15	0,05	24,9
	6	40	0,23	0,21	0,02	9,1
	M		0,22	0,18	0,04	18,3
	SD		0,01	0,05	0,05	21,3
Mn-02	7	23	2,15	1,61	0,54	25,3
	8	10	2,06	1,35	0,72	34,7
	9	37	1,85	1,59	0,26	14,3
	10	7	1,62	1,00	0,62	38,5
	11	11	2,19	1,36	0,83	37,7
	12	20	2,16	1,45	0,71	33,0
	M		2,01	1,39	0,61	30,6
	SD		0,23	0,22	0,20	9,3
Mn-04	13	12	4,60	3,42	1,19	25,8
	14	15	4,96	4,14	0,82	16,6
	15	2	4,12	2,32	1,80	43,7
	16	33	3,83	1,98	1,85	48,2
	17	19	4,23	2,55	1,68	39,8
	18	18	4,46	2,16	2,31	51,7
	M		4,37	2,76	1,61	37,6
	SD		0,40	0,84	0,53	13,7
Mn-08	19	16	6,99	5,77	1,22	17,4
	20	24	5,73	4,92	0,81	14,1
	21	38	9,42	5,20	4,22	44,8
	22	26	9,32	6,69	2,63	28,3
	23	41	7,59	5,56	2,02	26,7
	24	13	7,88	4,69	3,19	40,4
	M		7,82	5,47	2,35	28,6
	SD		1,41	0,72	1,27	12,2
Mn-16	25	32	14,58	8,48	6,10	41,8
	26	4	17,54	12,32	5,22	29,8
	27	42	17,55	13,83	3,72	21,2
	28	28	12,20	8,89	3,31	27,1
	29	35	12,22	10,85	1,37	11,2
	30	8	17,76	10,79	6,97	39,2
	M		15,31	10,86	4,45	28,4
	SD		2,67	2,02	2,05	11,4
Mn-32	31	1	33,48	16,27	17,22	51,4
	32	30	33,22	23,31	9,92	29,8
	33	25	31,98	21,07	10,91	34,1
	34	9	36,52	27,32	9,20	25,2
	35	21	28,56	12,10	16,46	57,6
	36	22	31,31	12,45	18,86	60,2
	M		32,51	18,75	13,76	43,1
	SD		2,64	6,16	4,22	15,2
Gesamt	M		10,37	6,57	3,80	31,1
	SD		11,29	7,00	5,08	15,5

Anhangstabelle 15: Schlachtbefunde

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Befund
Mn-02	10	7	geringgradige Brustfellverklebungen
Mn-04	15	2	ein kleiner atrophischer Hoden vorhanden ¹
Mn-04	16	33	Nierenzysten
Mn-04	17	19	Samenstrangabszess ²
Mn-08	23	41	vereinzelt aufgehellte Areale auf Leber
Mn-16	27	42	Nierenzysten
Mn-32	31	1	geringgradige Brustfellverklebungen
Mn-32	33	25	Nierenzysten

¹ Umfangsvermehrung im Skrotalbereich seit 2. Versuchswoche beobachtet

Anhangstabelle 16: Absolute und relative Gewichte von Herz, Leber und Niere

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Herz		Leber		linke Niere	
			g FM	Gew./KGW ¹ %	g FM	Gew./KGW %	g FM	Gew./KGW %
Mn-00	1	29	113	0,44	597	2,33	144	0,56
	2	27	112	0,44	630	2,45	136	0,53
	3	31	120	0,47	543	2,11	138	0,54
	4	36	109	0,42	540	2,1	159	0,62
	5	14	117	0,46	528	2,06	115	0,45
	6	40	126	0,49	463	1,8	132	0,51
	M		116	0,45	550	2,14	137	0,54
	SD		6	0,03	58	0,23	14	0,06
Mn-02	7	23	123	0,48	517	2,01	135	0,52
	8	10	109	0,42	522	2,03	98	0,38
	9	37	108	0,42	452	1,76	99	0,38
	10	7	111	0,43	508	1,98	125	0,48
	11	11	136	0,53	655	2,55	118	0,46
	12	20	142	0,55	686	2,67	137	0,53
	M		122	0,47	557	2,17	119	0,46
	SD		15	0,06	92	0,36	17	0,07
Mn-04	13	12	100	0,39	594	2,31	123	0,48
	14	15	103	0,4	555	2,16	111	0,43
	15	2	140	0,55	570	2,22	146	0,57
	16	33	114	0,45	503	1,96	142	0,55
	17	19	117	0,46	644	2,5	168	0,65
	18	18	125	0,49	564	2,19	122	0,48
	M		117	0,46	572	2,22	135	0,53
	SD		15	0,06	46	0,18	21	0,08
Mn-08	19	16	124	0,48	451	1,76	120	0,47
	20	24	101	0,39	544	2,12	99	0,38
	21	38	111	0,43	512	1,99	114	0,44
	22	26	127	0,49	564	2,19	144	0,56
	23	41	131	0,51	622	2,42	134	0,52
	24	13	143	0,56	532	2,07	127	0,5
	M		123	0,48	538	2,09	123	0,48
	SD		15	0,06	57	0,22	16	0,06
Mn-16	25	32	103	0,4	599	2,33	125	0,49
	26	4	123	0,48	576	2,24	145	0,57
	27	42	117	0,46	450	1,75	124	0,48
	28	28	126	0,49	445	1,73	124	0,48
	29	35	117	0,46	470	1,83	113	0,44
	30	8	127	0,5	573	2,23	148	0,58
	M		119	0,47	519	2,02	130	0,51
	SD		9	0,04	71	0,28	14	0,06
Mn-32	31	1	120	0,47	575	2,24	143	0,56
	32	30	106	0,41	554	2,16	114	0,44
	33	25	132	0,51	666	2,59	173	0,67
	34	9	123	0,48	515	2	141	0,55
	35	21	112	0,44	515	2	119	0,46
	36	22	139	0,54	517	2,01	141	0,55
	M		122	0,48	557	2,17	139	0,54
	SD		12	0,05	59	0,23	21	0,08
Gesamt	M		120	0,47	549	2,13	130	0,51
	SD		12	0,05	63	0,24	18	0,07

¹ Relatives Organgewicht = Organgewicht geteilt durch Lebendgewicht

Anhangstabelle 17: Rotes Blutbild und Thrombozyten vor Versuchsbeginn

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	RBC	HGB	PCV	MCV	MCH	MCHC	Retic	PLT
			T/l	mmol/l	l	fl	fmol	mmol/l	%	G/l
Mn-00	1	29	6,38	8,4	0,44	68,9	1,32	19,09	5,9	388
	2	27	6,34	7,7	0,40	62,2	1,22	19,49	4,8	130
	3	31	6,45	8,5	0,43	66,2	1,31	19,83	5,9	295
	4	36	6,43	8,5	0,45	69,7	1,33	18,99	5,7	581
	5	14	6,36	8,0	0,42	66,7	1,25	18,77	5,4	454
	6	40	6,27	7,9	0,41	64,9	1,25	19,33	5,6	590
	M		6,37	8,2	0,43	66,4	1,28	19,25	5,6	406
	SD		0,06	0,3	0,02	2,7	0,05	0,38	0,4	176
Mn-02	7	23	6,12	6,8	0,37	60,7	1,10	18,16	5,1	695
	8	10	6,47	7,7	0,40	62,3	1,19	19,14	4,2	259
	9	37	6,41	7,8	0,41	64,5	1,22	18,83	5,7	343
	10	7	6,77	7,8	0,41	60,1	1,15	19,07	4,1	548
	11	11	6,40	7,8	0,40	62,2	1,22	19,63	4,7	421
	12	20	5,63	7,7	0,39	69,1	1,36	19,68	3,9	540
	M		6,30	7,6	0,40	63,2	1,21	19,09	4,6	468
	SD		0,39	0,4	0,02	3,3	0,09	0,56	0,7	158
Mn-04	13	12	6,54	8,1	0,42	64,8	1,25	19,20	5,3	212
	14	15	6,36	8,0	0,42	66,0	1,26	18,99	6,5	336
	15	2	5,96	7,1	0,38	64,3	1,19	18,59	5,3	682
	16	33	6,40	8,0	0,42	65,2	1,25	19,18	4,4	594
	17	19	5,58	7,8	0,41	73,3	1,40	19,13	5,9	601
	18	18	6,86	8,4	0,43	62,1	1,22	19,65	2,5	719
	M		6,28	7,9	0,41	66,0	1,26	19,12	5,0	524
	SD		0,45	0,4	0,02	3,8	0,07	0,34	1,4	203
Mn-08	19	16	6,48	8,7	0,46	70,2	1,35	19,19	5,8	449
	20	24	6,31	7,8	0,39	62,2	1,23	19,70	5,5	316
	21	38	6,09	8,0	0,42	69,5	1,31	18,83	6,3	482
	22	26	6,06	7,8	0,39	64,2	1,29	19,99	3,5	515
	23	41	6,27	7,5	0,40	64,5	1,20	18,53	4,4	538
	24	13	6,54	7,8	0,42	64,9	1,20	18,49	5,9	747
	M		6,29	7,9	0,41	65,9	1,26	19,12	5,2	508
	SD		0,20	0,4	0,03	3,2	0,06	0,62	1,1	141
Mn-16	25	32	5,77	7,1	0,38	63,0	1,23	19,60	3,0	130
	26	4	6,25	7,7	0,41	66,1	1,24	18,70	5,1	659
	27	42	6,06	7,7	0,40	66,0	1,26	19,13	4,7	400
	28	28	6,07	7,7	0,40	65,4	1,27	19,44	4,9	511
	29	35	6,06	8,0	0,41	66,9	1,33	19,82	5,5	387
	30	8	6,01	7,6	0,41	68,9	1,27	18,40	7,8	659
	M		6,04	7,6	0,40	66,1	1,27	19,18	5,2	458
	SD		0,15	0,3	0,01	1,9	0,04	0,55	1,6	200
Mn-32	31	1	6,27	7,9	0,42	66,6	1,25	18,81	6,0	225
	32	30 ²								
	33	25	6,40	7,6	0,39	61,0	1,18	19,30	5,9	691
	34	9	5,78	7,9	0,41	71,6	1,37	19,16	6,0	744
	35	21	6,16	7,8	0,40	65,1	1,26	19,34	6,3	307
	36	22	5,70	7,6	0,40	70,1	1,33	18,92	6,3	377
	M		6,06	7,8	0,40	66,9	1,28	19,11	6,1	469
	SD		0,31	0,2	0,01	4,2	0,07	0,23	0,2	234
Gesamt	M		6,23	7,8	0,41	65,7	1,26	19,15	5,3	472
	SD		0,30	0,4	0,02	3,2	0,07	0,44	1,1	176

² Die Probe wies kleine Koagel auf und war daher nicht mehr analysierbar

Anhangstabelle 18: Rotes Blutbild und Thrombozyten am 14. Versuchstag

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	RBC	HGB	PCV	MCV	MCH	MCHC	Retic	PLT
			T/l	mmol/l	l	fl	fmol	mmol/l	%	G/l
Mn-00	1	29	6,14	7,3	0,38	59,8	1,19	19,86	2,8	597
	2	27	6,68	7,4	0,38	57,2	1,10	19,25	4,5	464
	3	31	6,99	8,2	0,42	59,8	1,17	19,57	3,1	476
	4	36	6,74	8,1	0,42	61,6	1,20	19,54	2,0	409
	5	14	6,24	7,1	0,37	59,1	1,13	19,03	3,6	334
	6	40	7,16	8,3	0,44	60,8	1,15	18,95	3,8	450
	M		6,66	7,7	0,40	59,7	1,16	19,37	3,3	455
	SD		0,40	0,5	0,03	1,5	0,04	0,35	0,9	87
Mn-02	7	23	5,73	5,7	0,31	53,5	1,00	18,73	2,8	857
	8	10	7,48	7,9	0,41	55,2	1,06	19,20	1,7	450
	9	37	6,45	7,2	0,37	56,9	1,12	19,76	2,1	541
	10	7	7,57	8,1	0,42	55,9	1,07	19,14	2,9	425
	11	11	7,13	7,9	0,42	59,1	1,11	18,72	4,0	574
	12	20	5,90	7,4	0,38	64,2	1,25	19,46	5,9	676
	M		6,71	7,4	0,39	57,5	1,10	19,17	3,2	587
	SD		0,80	0,9	0,04	3,8	0,08	0,41	1,5	160
Mn-04	13	12	6,63	7,7	0,40	60,8	1,16	19,03	2,5	371
	14	15	6,58	7,5	0,38	58,3	1,14	19,56	3,0	450
	15	2	6,40	7,7	0,40	61,8	1,20	19,36	4,9	620
	16	33	6,76	7,7	0,40	59,4	1,13	19,06	3,0	525
	17	19	5,94	7,7	0,41	68,9	1,29	18,68	3,4	593
	18	18	7,93	9,0	0,47	58,6	1,14	19,34	3,5	414
	M		6,71	7,9	0,41	61,3	1,18	19,17	3,4	496
	SD		0,66	0,6	0,03	4,0	0,06	0,31	0,8	100
Mn-08	19	16	6,69	8,4	0,44	65,2	1,25	19,15	4,9	600
	20	24	6,53	7,3	0,38	58,1	1,13	19,35	3,8	443
	21	38	6,96	8,0	0,42	61,0	1,15	18,79	2,4	652
	22	26	6,51	7,5	0,39	57,0	1,16	20,29	1,1	352
	23	41	6,23	6,8	0,34	54,7	1,08	19,75	1,9	766
	24	13	6,26	6,8	0,35	55,4	1,09	19,68	1,6	261
	M		6,53	7,5	0,39	58,6	1,14	19,50	2,6	512
	SD		0,27	0,6	0,04	3,9	0,06	0,52	1,5	192
Mn-16	25	32	6,17	6,9	0,36	58,5	1,12	19,12	3,7	377
	26	4	5,93	6,9	0,35	59,4	1,16	19,54	3,7	516
	27	42	6,74	7,9	0,42	62,1	1,16	18,70	3,7	637
	28	28	6,36	7,7	0,39	60,9	1,22	19,95	2,6	560
	29	35	6,25	7,6	0,39	61,5	1,21	19,70	4,1	428
	30	8	6,21	7,2	0,37	59,0	1,16	19,64	2,1	731
	M		6,28	7,4	0,38	60,2	1,17	19,44	3,3	542
	SD		0,27	0,4	0,03	1,5	0,04	0,45	0,8	131
Mn-32	31	1	6,90	7,9	0,41	59,3	1,14	19,26	3,8	350
	32	30	6,81	8,6	0,43	62,4	1,26	20,18	1,5	583
	33	25	6,47	7,0	0,36	55,3	1,08	19,57	3,0	750
	34	9	6,00	7,5	0,38	63,7	1,24	19,42	3,4	425
	35	21	6,68	7,7	0,39	57,6	1,16	20,00	5,1	384
	36	22	6,11	7,4	0,38	62,1	1,21	19,49	4,0	623
	M		6,50	7,7	0,39	60,1	1,18	19,65	3,5	519
	SD		0,37	0,5	0,02	3,2	0,07	0,36	1,2	157
Gesamt	M		5,35	6,3	0,32	50,3	0,99	16,42	3,4	476
	SD		2,45	2,8	0,15	23,3	0,46	7,87	1,3	205

Anhangstabelle 19: Rotes Blutbild und Thrombozyten am 28. Versuchstag

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	RBC	HGB	PCV	MCV	MCH	MCHC	Retic	PLT
			T/l	mmol/l	l	fl	fmol	mmol/l	%	G/l
Mn-00	1	29	5,85	6,9	0,36	60,8	1,18	19,32	4,1	602
	2	27	6,43	7,0	0,37	57,4	1,09	18,95	6,2	535
	3	31	6,43	7,4	0,39	61,2	1,16	18,95	4,8	183
	4	36	6,45	7,8	0,42	65,6	1,21	18,46	5,8	326
	5	14	7,35	7,9	0,46	62,3	1,07	17,27	6,7	494
	6	40	6,17	7,1	0,38	61,0	1,15	18,76	5,1	554
	M		6,45	7,4	0,40	61,4	1,14	18,62	5,5	449
	SD		0,50	0,4	0,04	2,7	0,05	0,72	1,0	161
Mn-02	7	23	6,00	5,9	0,33	54,5	0,99	18,10	5,8	579
	8	10	7,09	7,3	0,40	56,0	1,03	18,36	4,7	522
	9	37	6,41	7,3	0,39	60,8	1,14	18,79	5,5	364
	10	7	7,02	7,6	0,41	57,8	1,08	18,64	5,7	508
	11	11	7,58	8,3	0,46	60,6	1,10	18,15	6,8	643
	12	20	5,77	7,3	0,38	66,1	1,26	19,01	5,4	529
	M		6,65	7,3	0,40	59,3	1,10	18,51	5,7	524
	SD		0,70	0,8	0,04	4,2	0,09	0,36	0,7	93
Mn-04	13	12	6,34	7,3	0,40	62,4	1,15	18,38	5,6	341
	14	15	6,91	7,7	0,42	60,2	1,11	18,42	5,6	463
	15	2	6,26	7,7	0,41	64,9	1,23	18,90	5,2	665
	16	33	6,59	7,3	0,39	59,2	1,11	18,63	4,3	614
	17	19	6,32	8,0	0,45	71,0	1,27	17,87	6,0	601
	18	18	6,88	7,8	0,41	60,0	1,13	18,79	4,6	417
	M		6,55	7,6	0,41	63,0	1,17	18,50	5,2	517
	SD		0,29	0,3	0,02	4,5	0,07	0,37	0,7	128
Mn-08	19	16	6,36	7,8	0,43	66,8	1,23	18,43	6,4	454
	20	24	6,38	7,2	0,38	59,7	1,12	18,80	6,9	350
	21	38	6,60	7,6	0,41	62,1	1,16	18,59	6,3	564
	22	26	6,88	7,9	0,44	64,2	1,15	17,79	6,5	459
	23	41	6,76	7,0	0,38	55,7	1,04	18,73	4,7	463
	24	13	6,40	7,0	0,38	58,7	1,09	18,53	4,9	371
	M		6,56	7,4	0,40	61,2	1,13	18,48	6,0	444
	SD		0,22	0,4	0,03	4,0	0,06	0,36	0,9	76
Mn-16	25	32	6,52	7,2	0,39	59,4	1,11	18,63	4,5	481
	26	4	6,25	7,0	0,38	60,4	1,13	18,63	5,6	479
	27	42	6,40	7,4	0,41	63,8	1,16	18,06	5,3	495
	28	28	5,89	7,1	0,37	62,2	1,21	19,43	4,1	580
	29	35	7,24	8,5	0,46	63,2	1,17	18,56	5,4	493
	30	8	6,91	7,2	0,40	57,6	1,05	18,22	4,3	322
	M		6,54	7,4	0,40	61,1	1,14	18,59	4,9	475
	SD		0,48	0,6	0,03	2,4	0,06	0,47	0,6	84
Mn-32	31	1	6,57	7,4	0,40	60,7	1,13	18,57	7,0	300
	32	30	6,04	6,8	0,37	60,8	1,13	18,47	4,1	370
	33	25	6,58	6,9	0,38	57,3	1,04	18,08	6,1	876
	34	9	6,68	7,9	0,43	63,7	1,18	18,58	5,0	548
	35	21	6,53	7,3	0,38	58,0	1,12	19,30	5,7	404
	36	22	6,19	7,3	0,40	65,2	1,18	18,09	5,8	801
	M		6,43	7,3	0,39	61,0	1,13	18,52	5,6	550
	SD		0,25	0,4	0,02	3,1	0,05	0,45	1,0	239
Gesamt	M		5,44	6,2	0,33	51,4	0,95	15,50	4,9	570
	SD		2,55	2,9	0,15	23,9	0,44	7,39	1,9	239

Anhangstabelle 20: Rotes Blutbild und Thrombozyten am 42. Versuchstag

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	RBC	HGB	PCV	MCV	MCH	MCHC	Retic	PLT
			T/l	mmol/l	l	fl	fmol	mmol/l	%	G/l
Mn-00	1	29	6,03	7,2	0,36	59,6	1,19	19,94	2,8	517
	2	27	7,02	7,8	0,41	58,7	1,11	18,92	4,3	510
	3	31	6,87	8,2	0,42	61,6	1,20	19,50	3,8	375
	4	36	6,35	7,9	0,40	63,5	1,25	19,67	3,4	488
	5	14	8,04	9,0	0,49	60,8	1,12	18,41	3,8	439
	6	40	6,81	8,3	0,44	65,2	1,22	18,63	3,6	513
	M		6,85	8,1	0,42	61,6	1,18	19,18	3,6	474
	SD		0,69	0,6	0,04	2,4	0,06	0,61	0,5	56
Mn-02	7	23	6,60	7,1	0,38	57,2	1,07	18,58	4,5	583
	8	10	8,10	8,4	0,48	59,0	1,04	17,63	3,1	457
	9	37	6,90	8,1	0,43	61,8	1,18	19,07	3,1	453
	10	7	7,32	7,9	0,42	57,2	1,08	18,90	2,6	752
	11	11	7,99	8,9	0,49	61,3	1,11	18,08	3,7	530
	12	20	5,83	7,3	0,38	64,8	1,25	19,26	3,5	514
	M		7,12	8,0	0,43	60,2	1,12	18,59	3,4	548
	SD		0,86	0,7	0,05	3,0	0,08	0,63	0,7	111
Mn-04	13	12	6,74	7,8	0,41	61,4	1,16	18,87	3,5	247
	14	15	7,66	8,5	0,46	60,4	1,12	18,47	3,6	397
	15	2	6,26	7,9	0,40	64,1	1,26	19,69	3,6	562
	16	33	7,76	8,8	0,50	64,3	1,13	17,53	4,5	524
	17	19	6,28	8,0	0,45	71,0	1,27	17,91	3,3	506
	18	18	8,03	9,3	0,51	63,9	1,15	18,03	4,5	492
	M		7,12	8,4	0,46	64,2	1,18	18,42	3,8	455
	SD		0,79	0,6	0,05	3,7	0,07	0,78	0,5	116
Mn-08	19	16	6,60	8,1	0,44	66,2	1,23	18,56	3,1	528
	20	24	6,76	7,7	0,41	60,8	1,14	18,69	5,4	650
	21	38	7,41	8,6	0,49	65,7	1,16	17,59	4,9	296
	22	26	6,73	7,9	0,44	64,6	1,17	18,00	4,3	560
	23	41	6,91	7,4	0,39	56,8	1,07	18,86	3,4	498
	24	13	7,10	8,0	0,44	62,3	1,13	18,01	3,6	538
	M		6,92	8,0	0,44	62,7	1,15	18,29	4,1	512
	SD		0,30	0,4	0,03	3,6	0,05	0,49	0,9	118
Mn-16	25	32	7,40	8,4	0,48	64,2	1,14	17,69	4,1	457
	26	4	6,51	7,4	0,40	61,5	1,13	18,34	4,6	482
	27	42	6,83	7,8	0,42	61,5	1,14	18,51	3,4	599
	28	28	6,52	7,8	0,44	67,0	1,20	17,99	4,5	449
	29	35	7,00	8,5	0,45	64,5	1,21	18,73	4,9	437
	30	8	7,42	8,1	0,46	61,6	1,09	17,63	3,8	589
	M		6,95	8,0	0,44	63,4	1,15	18,15	4,2	502
	SD		0,40	0,4	0,03	2,3	0,05	0,45	0,6	73
Mn-32	31	1	7,85	9,0	0,50	63,3	1,14	18,01	5,2	284
	32	30	6,62	7,8	0,42	63,9	1,17	18,34	5,6	332
	33	25	6,38	6,9	0,38	59,1	1,07	18,18	4,6	791
	34	9	6,75	8,1	0,44	64,8	1,20	18,52	3,7	556
	35	21	7,69	8,8	0,48	62,4	1,14	18,25	3,7	345
	36	22	6,67	8,0	0,43	64,7	1,20	18,52	4,7	885
	M		6,99	8,1	0,44	63,0	1,15	18,30	4,6	532
	SD		0,62	0,8	0,04	2,1	0,05	0,20	0,8	256
Gesamt	M		6,99	8,1	0,44	62,5	1,16	18,49	4,0	504
	SD		0,60	0,6	0,04	3,0	0,06	0,62	0,7	132

Anhangstabelle 21: Weißes Blutbild vor Versuchsbeginn

Gruppe	Käftg	WBC	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO
		G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	%	%	%	%	%
Mn-00	1	9,15	4,01	4,47	0,24	0,36	0,02	43,8	48,9	2,6	3,9	0,2
	2	16,5	3,18	12,09	0,72	0,15	0,16	19,3	73,3	4,3	0,9	0,9
	3	10,37	2,6	6,98	0,44	0,14	0,05	25,1	67,3	4,2	1,4	0,4
	4	11,25	5,23	5,12	0,49	0,33	0,03	46,5	45,5	4,3	2,9	0,2
	5	8,52	2,79	5,04	0,31	0,16	0,03	32,7	59,1	3,6	1,8	0,4
	6	9,83	4,79	4,45	0,33	0,14	0,08	48,7	45,2	3,3	1,4	0,8
	M	10,94	3,77	6,36	0,42	0,21	0,06	36,0	56,6	3,7	2,1	0,5
SD	2,89	1,09	2,96	0,17	0,1	0,05	12,2	11,9	0,7	1,1	0,3	
Mn-02	7	10,73	4,47	5,02	0,39	0,71	0,01	41,6	46,8	3,6	6,6	0,1
	8	11,52	3,05	7,46	0,67	0,17	0,04	26,5	64,7	5,8	1,5	0,3
	9	8,5	3,6	4,47	0,24	0,11	0,02	42,3	52,6	2,8	1,3	0,2
	10	9,24	3,26	5,21	0,4	0,12	0,04	35,2	56,4	4,3	1,3	0,4
	11	8,25	1,91	5,73	0,32	0,06	0,02	23,2	69,4	3,8	0,7	0,2
	12	16,42	11,72	4,12	0,38	0,14	0,02	71,4	25,1	2,3	0,9	0,1
	M	10,78	4,67	5,34	0,4	0,22	0,03	40,0	52,5	3,8	2,1	0,2
SD	3,04	3,55	1,18	0,15	0,24	0,01	17,2	15,7	1,2	2,3	0,1	
Mn-04	13	10,76	3,59	6,16	0,52	0,16	0,03	33,4	57,2	4,8	1,4	0,3
	14	8,44	3,68	4,12	0,25	0,24	0,01	43,6	48,8	3,0	2,8	0,1
	15	8,49	3,58	4,23	0,25	0,13	0,03	42,2	49,8	2,9	1,5	0,4
	16	11,22	6,56	4,03	0,34	0,19	0,01	58,5	35,9	3,0	1,6	0,1
	17	12,06	2,71	8,23	0,56	0,36	0,03	22,5	68,2	4,6	3,0	0,2
	18	30,98	24,55	5,15	0,58	0,32	0,04	79,2	16,6	1,9	1,0	0,1
	M	13,66	7,45	5,32	0,42	0,23	0,03	46,6	46,1	3,4	1,9	0,2
SD	8,61	8,48	1,64	0,15	0,09	0,01	19,9	17,9	1,1	0,8	0,1	
Mn-08	19	9,08	3,55	4,58	0,42	0,95	0,03	39,0	50,4	4,6	10,4	0,3
	20	7,7	2,84	3,98	0,44	0,37	0,02	36,8	51,7	5,7	4,8	0,3
	21	8,71	4,67	3,44	0,26	0,24	0,02	53,6	39,5	2,9	2,8	0,2
	22	9,54	3,51	5,22	0,42	0,29	0,02	36,8	54,7	4,4	3,0	0,2
	23	12,48	3,77	7,85	0,29	0,44	0,06	30,2	62,9	2,3	3,5	0,4
	24	9,62	4,15	4,5	0,55	0,23	0,03	43,2	46,7	5,7	2,4	0,3
	M	9,52	3,75	4,93	0,4	0,42	0,03	39,9	51,0	4,3	4,5	0,3
SD	1,61	0,62	1,55	0,11	0,27	0,02	7,9	7,8	1,4	3,0	0,1	
Mn-16	25	12,26	1,35	10,23	0,39	0,11	0,04	11,0	83,4	3,1	0,9	0,3
	26	11,42	5,09	5,57	0,49	0,12	0,04	44,5	48,8	4,2	1,0	0,3
	27	9,09	1	4,55	3,92	0,04	0,06	10,9	50,1	43,1	0,4	0,6
	28	10,55	3,38	5,99	0,72	0,33	0,03	32,1	56,8	6,8	3,1	0,3
	29	9,86	1,38	7,37	0,71	0,07	0,04	14,0	74,8	7,2	0,7	0,4
	30	12,99	4,7	7,2	0,73	0,22	0,03	36,1	55,4	5,6	1,7	0,2
	M	11,03	2,82	6,82	1,16	0,15	0,04	24,8	61,6	11,7	1,3	0,4
SD	1,47	1,82	1,97	1,36	0,11	0,01	14,6	14,2	15,5	1,0	0,1	
Mn-32	31	10,43	2,33	7,52	0,26	0,19	0,04	22,4	72,1	2,4	1,8	0,4
	32 ¹											
	33	10,28	4	5,46	0,29	0,34	0,03	38,9	53,1	2,8	3,3	0,3
	34	10,84	3,71	6,2	0,68	0,13	0,04	34,2	57,2	6,3	1,2	0,3
	35	8,48	3,03	4,74	0,39	0,22	0,02	35,7	55,9	4,5	2,6	0,2
	36	33,68	27,62	4,37	0,6	0,89	0,02	82,0	13,0	1,8	2,6	0,0
	M	14,74	8,14	5,66	0,44	0,35	0,03	42,6	50,3	3,6	2,3	0,2
SD	10,63	10,91	1,26	0,19	0,31	0,01	22,9	22,1	1,8	0,8	0,2	
Gesamt	M	11,69	5,01	5,74	0,54	0,26	0,04	38,2	53,1	5,1	2,4	0,3
	SD	5,54	5,57	1,86	0,61	0,21	0,03	16,6	15,0	6,8	1,9	0,2

¹ Die Probe wies kleine Koagel auf und war daher nicht mehr analysierbar

Anhangstabelle 22: Weißes Blutbild am 14. Versuchstag

Gruppe	Käfig	WBC	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO
		G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	%	%	%	%	%
Mn-00	1	14,24	5,99	7,11	0,69	0,29	0,03	42,0	49,9	4,8	2,0	0,2
	2	26,96	6,93	18,53	1,10	0,10	0,17	25,7	68,7	4,1	0,4	0,6
	3	15,36	4,26	9,89	0,85	0,14	0,07	27,7	64,4	5,5	0,9	0,4
	4	17,10	7,48	8,03	0,92	0,37	0,04	43,7	46,9	5,4	2,2	0,2
	5	20,89	4,97	14,42	1,09	0,08	0,06	23,8	69,0	5,2	0,4	0,3
	6	19,93	6,07	12,65	0,83	0,11	0,06	30,4	63,5	4,2	0,5	0,3
	M	19,08	5,95	11,77	0,91	0,18	0,07	32,2	60,4	4,9	1,1	0,3
SD	4,63	1,19	4,31	0,16	0,12	0,05	8,5	9,6	0,6	0,8	0,2	
Mn-02	7	21,31	9,01	10,41	1,05	0,20	0,08	42,3	48,9	4,9	0,9	0,4
	8	20,54	6,05	12,83	1,24	0,20	0,10	29,4	62,4	6,0	0,9	0,5
	9	18,20	9,31	8,08	0,61	0,08	0,03	51,2	44,4	3,4	0,4	0,2
	10	16,81	4,69	11,11	0,72	0,10	0,50	27,9	66,1	4,3	0,6	2,9
	11	19,10	5,75	12,20	0,71	0,10	0,07	30,1	63,9	3,7	0,5	0,4
	12	15,44	5,19	9,12	0,90	0,13	0,05	33,6	59,1	5,8	0,8	0,3
	M	18,57	6,67	10,63	0,87	0,14	0,14	35,8	57,5	4,7	0,7	0,8
SD	2,22	1,99	1,81	0,24	0,05	0,18	9,2	8,8	1,1	0,2	1,0	
Mn-04	13	17,76	6,58	9,58	1,08	0,26	0,06	37,1	53,9	6,1	1,5	0,3
	14	17,33	5,21	10,93	0,83	0,18	0,04	30,1	63,1	4,8	1,0	0,2
	15	16,74	6,39	9,33	0,66	0,13	0,06	38,2	55,7	3,9	0,7	0,3
	16	17,79	6,06	10,70	0,81	0,05	0,05	34,0	60,1	4,5	0,3	0,3
	17	17,93	6,42	10,60	0,74	0,08	0,05	35,8	59,1	4,1	0,4	0,3
	18	23,99	9,31	12,39	1,46	0,53	0,14	38,8	51,7	6,1	2,2	0,6
	M	18,59	6,66	10,59	0,93	0,21	0,07	35,7	57,3	4,9	1,0	0,3
SD	2,68	1,39	1,09	0,30	0,18	0,04	3,2	4,3	1,0	0,7	0,1	
Mn-08	19	16,04	6,29	8,76	0,66	0,10	0,06	39,2	54,6	4,1	0,6	0,4
	20	20,89	9,43	9,83	0,67	0,44	0,20	45,2	47,1	3,2	2,1	0,9
	21	16,96	8,53	7,38	0,74	0,14	0,04	50,3	43,5	4,3	0,8	0,2
	22	12,97	4,93	7,30	0,44	0,15	0,03	38,0	56,3	3,4	1,2	0,2
	23	13,77	3,26	9,64	0,51	0,14	0,07	23,7	70,0	3,7	1,0	0,5
	24	17,68	6,19	10,25	0,83	0,13	0,08	35,0	58,0	4,7	0,7	0,4
	M	16,39	6,44	8,86	0,64	0,18	0,08	38,6	54,9	3,9	1,1	0,4
SD	2,86	2,27	1,27	0,14	0,13	0,06	9,1	9,3	0,6	0,6	0,3	
Mn-16	25	15,65	3,79	10,97	0,74	0,13	0,03	24,2	70,1	4,7	0,8	0,2
	26	15,88	4,69	9,83	0,79	0,14	0,09	29,5	61,9	4,9	0,9	0,5
	27	19,33	7,17	10,88	0,85	0,16	0,08	37,1	56,3	4,4	0,8	0,4
	28	13,12	3,36	8,85	0,67	0,08	0,07	25,6	67,5	5,1	0,6	0,5
	29	15,19	5,02	9,29	0,75	0,04	0,04	33,0	61,1	4,9	0,3	0,2
	30	20,96	8,98	10,42	1,04	0,20	0,07	42,8	49,7	5,0	0,9	0,3
	M	16,69	5,50	10,04	0,81	0,13	0,06	32,0	61,1	4,8	0,7	0,4
SD	2,90	2,16	0,86	0,13	0,06	0,02	7,1	7,4	0,3	0,2	0,1	
Mn-32	31	18,11	7,16	9,89	0,63	0,09	0,06	39,5	54,6	3,5	0,5	0,3
	32	19,41	9,08	8,55	1,05	0,48	0,07	46,8	44,0	5,4	2,5	0,4
	33	24,01	9,25	13,36	0,90	0,21	0,08	38,5	55,6	3,7	0,9	0,3
	34	14,76	5,38	8,14	0,79	0,18	0,33	36,4	55,1	5,3	1,2	2,2
	35	18,59	5,36	12,19	0,59	0,17	0,04	28,8	65,6	3,1	0,9	0,2
	36	17,11	6,80	9,68	0,48	0,03	0,05	39,8	56,6	2,8	0,2	0,3
	M	18,67	7,17	10,30	0,74	0,19	0,11	38,3	55,3	4,0	1,0	0,6
SD	3,07	1,71	2,06	0,21	0,16	0,11	5,8	6,9	1,1	0,8	0,8	
Gesamt	M	18,00	6,40	10,36	0,82	0,17	0,09	35,4	57,7	4,5	0,9	0,5
	SD	3,11	1,78	2,24	0,22	0,12	0,09	7,4	7,7	0,9	0,6	0,5

Anhangstabelle 23: Weißes Blutbild am 28. Versuchstag

Gruppe	Käfig	WBC	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO
		G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	%	%	%	%	%
Mn-00	1	14,57	2,63	10,28	1,32	0,17	0,05	18,0	70,6	9,0	1,2	0,3
	2	15,21	3,19	11,15	0,41	0,06	0,03	21,0	73,3	2,7	0,4	0,2
	3	13,12	2,00	9,72	0,78	0,09	0,06	15,2	74,1	5,9	0,7	0,5
	4	12,32	2,57	8,59	0,49	0,48	0,04	20,8	69,7	4,0	3,9	0,3
	5	28,32	3,29	22,92	1,31	0,21	0,16	11,6	80,9	4,6	0,7	0,6
	6	16,51	5,18	10,39	0,75	0,09	0,05	31,4	62,9	4,5	0,5	0,3
	M	16,68	3,14	12,18	0,84	0,18	0,07	19,7	71,9	5,1	1,2	0,4
SD	5,90	1,10	5,33	0,39	0,16	0,05	6,8	5,9	2,2	1,3	0,2	
Mn-02	7	14,77	5,60	7,56	0,97	0,55	0,05	37,9	51,2	6,5	3,7	0,3
	8	21,87	4,83	15,32	1,30	0,17	0,10	22,1	70,1	5,9	0,8	0,4
	9	12,97	4,01	7,91	0,61	0,35	0,04	30,9	60,9	4,7	2,7	0,3
	10	13,41	3,59	9,01	0,51	0,08	0,06	26,7	67,2	3,8	0,6	0,4
	11	13,86	3,21	9,84	0,47	0,07	0,05	23,1	71,0	3,4	0,5	0,4
	12	18,33	3,73	13,22	0,90	0,18	0,24	20,3	72,1	4,9	1,0	1,3
	M	15,87	4,16	10,48	0,79	0,23	0,09	26,8	65,4	4,9	1,6	0,5
SD	3,51	0,89	3,12	0,32	0,18	0,08	6,6	8,0	1,2	1,3	0,4	
Mn-04	13	11,77	3,43	7,09	0,80	0,35	0,03	29,1	60,2	6,8	2,9	0,2
	14	14,78	4,59	9,20	0,73	0,14	0,06	31,0	62,3	4,9	0,9	0,4
	15	10,14	2,84	6,47	0,57	0,13	0,04	28,0	63,8	5,6	1,2	0,3
	16	16,23	5,20	10,02	0,53	0,17	0,04	32,0	61,8	3,2	1,0	0,2
	17	13,72	3,43	9,41	0,47	0,12	0,03	25,0	68,6	3,4	0,9	0,2
	18	17,26	5,86	10,36	0,56	0,19	0,05	34,0	60,0	3,2	1,1	0,3
	M	13,98	4,23	8,76	0,61	0,18	0,04	29,9	62,8	4,5	1,3	0,3
SD	2,69	1,18	1,60	0,13	0,09	0,01	3,2	3,2	1,5	0,8	0,1	
Mn-08	19	11,30	3,42	7,07	0,41	0,24	0,04	30,3	62,6	3,6	2,1	0,4
	20	14,23	6,50	6,36	0,86	0,26	0,12	45,7	44,7	6,0	1,8	0,8
	21	10,91	2,03	8,24	0,44	0,11	0,02	18,6	75,5	4,0	1,0	0,2
	22	42,20	5,84	31,42	3,28	0,66	0,56	13,8	74,5	7,8	1,6	1,3
	23	9,52	2,20	6,81	0,33	0,05	0,04	23,1	71,5	3,4	0,5	0,4
	24	15,14	6,12	7,91	0,64	0,22	0,04	40,4	52,3	4,2	1,4	0,3
	M	17,22	4,35	11,30	0,99	0,26	0,14	28,7	63,5	4,8	1,4	0,6
SD	12,42	2,04	9,88	1,14	0,21	0,21	12,5	12,7	1,7	0,6	0,4	
Mn-16	25	15,72	4,17	10,45	0,66	0,19	0,03	26,5	66,5	4,2	1,2	0,2
	26	10,29	2,92	6,38	0,62	0,12	0,05	28,4	62,0	6,0	1,1	0,4
	27	11,21	3,82	6,49	0,32	0,37	0,05	34,1	57,9	2,9	3,3	0,4
	28	11,20	3,42	6,74	0,66	0,15	0,03	30,5	60,2	5,9	1,3	0,2
	29	15,01	3,15	10,79	0,85	0,07	0,08	21,0	71,9	5,7	0,5	0,6
	30	18,73	8,85	7,94	1,15	0,62	0,07	47,2	42,4	6,1	3,3	0,3
	M	13,69	4,39	8,13	0,71	0,25	0,05	31,3	60,2	5,1	1,8	0,4
SD	3,32	2,23	2,01	0,28	0,21	0,02	8,9	10,0	1,3	1,2	0,2	
Mn-32	31	16,14	4,06	10,78	0,79	0,16	0,05	25,2	66,8	4,9	1,0	0,3
	32	12,51	2,55	8,22	1,04	0,28	0,12	20,3	65,7	8,3	2,2	0,9
	33	18,32	5,36	11,76	0,68	0,25	0,04	29,2	64,2	3,7	1,4	0,2
	34	11,39	3,00	7,48	0,70	0,12	0,04	26,4	65,7	6,1	1,1	0,3
	35	15,45	4,64	9,99	0,46	0,11	0,02	30,0	64,7	3,0	0,7	0,1
	36	15,61	3,36	11,30	0,62	0,10	0,17	21,5	72,4	3,9	0,6	1,1
	M	14,90	3,83	9,92	0,72	0,17	0,07	25,4	66,6	5,0	1,2	0,5
SD	2,53	1,06	1,72	0,19	0,08	0,06	4,0	3,0	2,0	0,6	0,4	
Gesamt	M	15,39	4,02	10,13	0,78	0,21	0,08	27,0	65,1	4,9	1,4	0,4
	SD	5,84	1,46	4,77	0,50	0,16	0,10	8,1	8,3	1,6	1,0	0,3

Anhangstabelle 24: Weißes Blutbild am 42. Versuchstag

Gruppe	Käfig	WBC	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO	NEUT	LYMPH	MONO	EOS	BASO
		G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	G/l	%	%	%	%	%
Mn-00	1	24,77	2,76	19,31	1,93	0,56	0,06	11,1	78,0	7,8	2,3	0,2
	2	19,20	2,88	15,01	0,80	0,19	0,09	15,0	78,2	4,2	1,0	0,5
	3	16,33	4,33	11,06	0,60	0,11	0,04	26,5	67,7	3,6	0,7	0,2
	4	12,23	2,60	8,53	0,35	0,49	0,03	21,2	69,7	2,8	4,0	0,2
	5	23,71	5,14	16,95	1,10	0,30	0,10	21,7	71,5	4,6	1,3	0,4
	6	12,38	3,73	7,57	0,64	0,36	0,03	30,1	61,1	5,1	2,9	0,2
	M	18,10	3,57	13,07	0,90	0,34	0,06	20,9	71,0	4,7	2,0	0,3
SD	5,43	1,01	4,75	0,56	0,17	0,03	7,0	6,5	1,7	1,3	0,1	
Mn-02	7	14,81	4,54	9,24	0,53	0,19	0,03	30,6	62,4	3,6	1,2	0,2
	8	10,64	2,25	7,33	0,62	0,06	0,13	21,2	68,9	5,8	0,5	1,2
	9	23,41	2,56	18,84	1,00	0,10	0,09	10,9	80,5	4,3	0,4	0,4
	10	13,17	3,54	7,63	1,49	0,29	0,10	26,8	57,9	11,3	2,2	0,8
	11	17,62	4,13	12,14	0,84	0,22	0,05	23,4	68,9	4,8	1,2	0,3
	12	15,49	2,91	11,14	0,96	0,33	0,06	18,8	71,9	6,2	2,1	0,4
	M	15,86	3,32	11,05	0,91	0,20	0,08	22,0	68,4	6,0	1,3	0,6
SD	4,38	0,90	4,26	0,34	0,10	0,04	6,8	7,8	2,8	0,8	0,4	
Mn-04	13	24,60	7,65	15,19	1,11	0,47	0,06	31,1	61,7	4,5	1,9	0,2
	14	26,07	3,53	20,26	1,74	0,16	0,20	13,5	77,7	6,7	0,6	0,7
	15	24,23	6,75	15,41	0,87	0,55	0,10	27,8	63,6	3,6	2,3	0,4
	16	18,73	3,04	13,88	1,37	0,23	0,13	16,2	74,1	7,3	1,2	0,7
	17	25,91	8,45	15,34	1,50	0,28	0,15	32,6	59,2	5,8	1,1	0,6
	18	22,49	5,01	15,57	1,08	0,50	0,07	22,3	69,2	4,8	2,2	0,3
	M	23,67	5,74	15,94	1,28	0,37	0,12	23,9	67,6	5,5	1,6	0,5
SD	2,75	2,22	2,20	0,32	0,16	0,05	7,9	7,3	1,4	0,7	0,2	
Mn-08	19	29,62	3,20	23,48	2,22	0,30	0,18	10,8	79,3	7,5	1,0	0,6
	20	18,85	2,93	14,13	1,10	0,20	0,10	15,5	75,0	5,8	1,1	0,5
	21	22,52	4,19	16,68	1,03	0,44	0,09	18,6	74,1	4,6	1,9	0,4
	22	22,14	5,93	14,53	0,79	0,58	0,05	26,8	65,6	3,5	2,6	0,2
	23	13,77	3,04	9,44	0,60	0,41	0,05	22,0	68,6	4,4	2,9	0,4
	24	18,04	4,77	11,63	0,76	0,32	0,07	26,4	64,5	4,2	1,7	0,4
	M	20,82	4,01	14,98	1,08	0,38	0,09	20,0	71,2	5,0	1,9	0,4
SD	5,36	1,19	4,86	0,59	0,13	0,05	6,3	5,9	1,4	0,8	0,1	
Mn-16	25	32,38	5,10	23,01	3,24	0,42	0,27	15,7	71,1	10,0	1,3	0,8
	26	26,91	4,10	20,41	1,89	0,13	0,17	15,2	75,9	7,0	0,5	0,6
	27	17,97	6,77	9,44	0,94	0,52	0,08	37,6	52,5	5,2	2,9	0,4
	28	32,68	7,02	23,19	1,15	0,56	0,35	21,5	71,0	3,5	1,7	1,1
	29	18,72	3,24	13,48	1,16	0,66	0,07	17,3	72,0	6,2	3,5	0,4
	30	31,68	4,59	23,11	2,74	0,62	0,27	14,5	72,9	8,6	1,9	0,8
	M	26,72	5,14	18,77	1,85	0,49	0,20	20,3	69,2	6,8	2,0	0,7
SD	6,82	1,50	5,90	0,95	0,19	0,11	8,8	8,4	2,3	1,1	0,3	
Mn-32	31	13,76	2,82	9,25	1,07	0,16	0,12	20,5	67,2	7,8	1,2	0,8
	32	15,23	2,58	11,25	1,01	0,22	0,08	16,9	73,9	6,6	1,4	0,5
	33	14,93	3,92	9,99	0,70	0,21	0,06	26,2	66,9	4,7	1,4	0,4
	34	11,39	3,00	7,48	0,70	0,12	0,04	26,4	65,7	6,1	1,1	0,3
	35	15,45	4,64	9,99	0,46	0,11	0,02	30,0	64,7	3,0	0,7	0,1
	36	15,61	3,36	11,30	0,62	0,10	0,17	21,5	72,4	3,9	0,6	1,1
	M	14,40	3,39	9,88	0,76	0,15	0,08	23,6	68,5	5,4	1,1	0,5
SD	1,61	0,77	1,42	0,23	0,05	0,06	4,8	3,8	1,8	0,3	0,4	
Gesamt	M	19,93	4,19	13,95	1,13	0,32	0,10	21,8	69,3	5,5	1,6	0,5
	SD	6,19	1,57	4,94	0,63	0,17	0,07	6,7	6,4	2,0	0,9	0,3

Anhangstabelle 25: Enzyme im Plasma am 43. Versuchstag

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Amylase	Alkalische Phosphatase
			U/l	U/l
Mn-00	1	29	3382	717
	2	27	3258	563
	3	31	3876	728
	4	36	1330	634
	5	14	3027	844
	6	40	1638	772
	M		2752	710
	SD		1025	100
Mn-02	7	23	2363	802
	8	10	1315	547
	9	37	1016	595
	10	7	3020	266
	11	11	2462	699
	12	20	1935	783
	M		2019	615
	SD		752	199
Mn-04	13	12	4761	478
	14	15	1231	553
	15	2	2049	895
	16	33	4307	911
	17	19	1767	538
	18	18	4148	773
	M		3044	691
	SD		1528	192
Mn-08	19	16	1939	742
	20	24	1294	615
	21	38	2934	506
	22	26	2016	596
	23	41	1593	559
	24	13	2287	756
	M		2011	629
	SD		570	100
Mn-16	25	32	2369	523
	26	4	2098	733
	27	42	3119	496
	28	28	1944	748
	29	35	2487	441
	30	8	2023	599
	M		2340	590
	SD		435	127
Mn-32	31	1	3208	493
	32	30	3900	692
	33	25	3709	1048
	34	9	2005	691
	35	21	2693	584
	36	22	2969	863
	M		3081	729
	SD		693	200
Gesamt	M		2541	661
	SD		953	157

Anhangstabelle 26: Maße und Gewichte von Radius und Ulna der rechten Vordergliedmaße zu Versuchsende

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Gewicht	Länge	Gelenkflächendurchmesser	
					proximal	distal
			<i>g</i>	<i>mm</i> ¹	<i>mm</i>	<i>mm</i>
Mn-00	1	29	82,67	79,0	31,0	37,0
	2	27	75,69	75,0	30,0	35,0
	3	31	77,75	77,0	29,0	37,0
	4	36	79,81	78,0	30,0	39,0
	5	14	84,57	81,0	31,0	38,0
	6	40	92,60	74,5	32,0	38,0
	M		82,18	77,4	30,5	37,3
	SD		6,03	2,5	1,1	1,4
Mn-02	7	23	80,23	75,5	29,0	37,0
	8	10	79,60	75,0	29,0	37,0
	9	37	74,94	80,0	30,0	38,0
	10	7	73,40	78,0	28,5	36,0
	11	11	84,70	82,0	32,0	37,0
	12	20	99,06	84,0	33,0	40,0
	M		81,99	79,1	30,3	37,5
	SD		9,28	3,6	1,8	1,4
Mn-04	13	12	77,52	79,0	30,0	37,0
	14	15	78,10	76,0	29,5	36,0
	15	2	90,00	78,0	32,0	40,0
	16	33	91,34	81,0	30,0	40,0
	17	19	92,54	80,5	30,5	39,0
	18	18	89,50	85,0	31,0	38,0
	M		86,50	79,9	30,5	38,3
	SD		6,82	3,1	0,9	1,6
Mn-08	19	16	74,90	80,0	29,0	39,0
	20	24	71,43	75,0	29,0	36,0
	21	38	74,64	75,0	28,0	37,0
	22	26	72,20	79,0	30,0	38,0
	23	41	91,19	82,5	32,5	40,0
	24	13	91,49	81,5	32,0	38,0
	M		79,31	78,8	30,1	38,0
	SD		9,42	3,2	1,8	1,4
Mn-16	25	32	75,46	76,0	30,0	35,0
	26	4	85,90	79,5	30,0	39,0
	27	42	88,16	83,0	30,5	38,0
	28	28	82,08	77,0	29,0	37,5
	29	35	72,79	79,0	28,0	35,0
	30	8	91,39	83,5	34,0	39,0
	M		82,63	79,7	30,3	37,3
	SD		7,30	3,1	2,0	1,8
Mn-32	31	1	81,43	79,0	31,0	40,0
	32	30	78,62	77,0	30,0	36,0
	33	25	87,42	81,5	30,0	38,0
	34	9	83,03	82,0	30,0	38,0
	35	21	80,15	80,5	30,0	38,0
	36	22	92,97	83,0	31,0	40,0
	M		83,94	80,5	30,3	38,3
	SD		5,36	2,2	0,5	1,5
Gesamt	M		82,76	79,2	30,3	37,8
	SD		7,31	2,9	1,4	1,5

¹ Bei der Bestimmung von Längenmaßen wurde auf einen halben Millimeter genau gemessen.

Anhangstabelle 27: Mangangehalt in Geweben zu Versuchsende, gemessen mittels GFAAS nach Naßveraschung bzw. Trockenveraschung (Knochen)

Gruppe	Küfig	Ohrmarke	Mangangehalt (mg/kg FM)							
			Leber	Niere	Lunge	Herz	Muskel ²	Phalanx	Pankreas	
Mn-00	1	29	0,318	0,260	0,080	0,084	0,028	0,024	0,353	
	2	27	0,224	0,227	0,042	0,040	0,026	0,021	0,412	
	3	31	0,176	0,253	0,063	0,057	0,011	0,021	0,390	
	4	36	0,280	0,258	0,073	0,052	0,019	0,029	0,392	
	5	14	0,364	0,262	0,074	0,067	0,020	0,021	0,444	
	6	40	0,313	0,296	0,062	0,060	0,017	0,021	0,492	
	M			0,279	0,259	0,066	0,060	0,020	0,023	0,414
			SD	0,069	0,022	0,013	0,015	0,006	0,003	0,049
Mn-02	7	23	0,818	0,457	0,098	0,062	0,038	0,040	0,634	
	8	10	0,817	0,515	0,115	0,092	0,021	0,033	0,588	
	9	37	0,794	0,496	0,093	0,059	0,022	0,034	0,560	
	10	7	0,796	0,457	0,081	0,072	0,036	0,031	0,676	
	11	11	0,698	0,413	0,115	0,052	0,035	0,057	0,696	
	12	20	0,688	0,442	0,102	0,083	0,026	0,030	0,764	
	M			0,769	0,463	0,101	0,070	0,030	0,038	0,653
			SD	0,059	0,037	0,013	0,015	0,008	0,010	0,075
Mn-04	13	12	1,291	0,682	0,169	0,122	0,039	0,111	0,913	
	14	15	0,956	0,653	0,106	0,114	0,028	0,045	0,962	
	15	2	1,208	0,867	0,123	0,156	0,036	0,059	1,160	
	16	33	1,068	0,709	0,161	0,130	0,037	0,061	1,028	
	17	19	0,862	0,703	0,159	0,121	0,031	0,049	0,915	
	18	18	1,061	0,874	0,156	0,139	0,032	0,048	1,136	
	M			1,074	0,748	0,146	0,130	0,034	0,062	1,019
			SD	0,158	0,097	0,025	0,015	0,004	0,025	0,109
Mn-08	19	16	1,891	1,067	0,218	0,184	0,050	0,105	1,548	
	20	24	1,626	0,912	0,154	0,129	0,064	0,061	1,068	
	21	38	1,359	0,716	0,110	0,108	0,042	0,060	0,943	
	22	26	1,404	1,180	0,206	0,202	0,064	0,077	1,464	
	23	41	1,692	0,998	0,172	0,170	0,052	0,077	0,997	
	24	13	1,576	1,111	0,123	0,193	0,049	0,070	1,668	
	M			1,591	0,997	0,164	0,164	0,054	0,075	1,281
			SD	0,195	0,166	0,043	0,038	0,009	0,016	0,315
Mn-16	25	32	1,502	1,089	0,130	0,259	0,049	0,126	1,434	
	26	4	1,912	0,966	0,175	0,265	0,051	0,138	1,234	
	27	42	2,234	1,121	0,161	0,225	0,063	0,128	1,350	
	28	28	1,965	1,060	0,202	0,233	0,069	0,127	1,513	
	29	35	1,848	0,997	0,270	0,212	0,064	0,100	1,136	
	30	8	2,164	1,139	0,207	0,233	0,075	0,106	1,186	
	M			1,938	1,062	0,191	0,238	0,062	0,121	1,309
			SD	0,260	0,069	0,048	0,020	0,010	0,015	0,148
Mn-32	31	1	2,074	1,265	0,230	0,325	0,069	0,178	2,112	
	32	30	2,606	1,143	0,226	0,217	0,106	0,138	1,264	
	33	25	1,610	1,116	0,240	0,283	0,057	0,132	1,387	
	34	9	2,093	1,012	0,237	0,000	0,054	0,164	1,421	
	35	21	1,606	1,172	0,204	0,556	0,074	0,124	1,259	
	36	22	2,176	1,113	0,240	0,279	0,065	0,156	1,293	
	M			2,028	1,137	0,230	0,277	0,071	0,149	1,456
			SD	0,378	0,083	0,014	0,179	0,019	0,021	0,328
Gesamt	M		1,280	0,778	0,149	0,157	0,045	0,078	1,022	
	SD		0,671	0,338	0,062	0,108	0,021	0,047	0,424	

² Werte < 0,050 mg/kg FM liegen unterhalb der Standardkurve und der Bestimmungsgrenze

Anhangstabelle 28: Mangengehalt im Vollblut zu Versuchsende, gemessen mittels GFAAS nach Mikrowellenaufschluß und Aufkonzentrierung durch Eindampfen

Gruppe	Küfig	Ohrmarke	Mangengehalt (mg/kg FM)			
			Versuchstag:	0	14	28
Mn-00	1	29	34,12	32,04	10,80	11,77
	2	27	22,24	27,52	11,67	13,12
	3	31	27,39	30,86	14,29	9,96
	4	36	30,45	36,40	18,37	12,98
	5	14	44,77	37,41	24,13	12,57
	6	40	27,19	31,49	12,79	10,46
	M		31,03	32,62	15,34	11,81
	SD	7,80	3,69	5,06	1,34	
Mn-02	7	23	69,24	19,10	12,03	12,83
	8	10	44,09	32,30	14,89	15,81
	9	37	26,15	20,08	10,60	11,68
	10	7	28,14	26,78	11,45	13,00
	11	11	45,48	30,19	18,26	13,98
	12	20	25,10	20,10	12,50	12,55
	M		39,70	24,76	13,29	13,31
	SD	17,06	5,76	2,83	1,43	
Mn-04	13	12	22,32	20,42	10,65	14,52
	14	15	18,29	16,13	9,63	12,87
	15	2	32,21	32,89	13,73	15,30
	16	33	17,88	14,61	9,63	16,68
	17	19	25,15	22,92	15,81	13,72
	18	18	31,44	36,51	14,49	15,80
	M		24,55	23,91	12,32	14,82
	SD	6,25	8,94	2,69	1,40	
Mn-08	19	16	37,68	34,39	22,93	22,60
	20	24	19,07	14,77	12,89	17,88
	21	38	25,99	16,63	19,92	9,63
	22	26	33,59	17,91	12,57	18,44
	23	41	35,86	33,29	17,71	14,65
	24	13	31,77	17,36	13,70	11,73
	M		30,66	22,39	16,62	15,82
	SD	6,96	8,94	4,26	4,76	
Mn-16	25	32	27,08	20,94	21,76	20,12
	26	4	30,36	18,76	21,99	20,73
	27	42	44,42	11,49	20,13	16,76
	28	28	16,03	17,86	16,75	19,04
	29	35	28,04	17,60	19,20	16,90
	30	8	38,46	31,12	29,27	32,23
	M		30,73	19,63	21,52	20,96
	SD	9,84	6,45	4,25	5,76	
Mn-32	31	1	26,83	20,57	26,23	30,10
	32	30	42,93	23,01	28,47	29,84
	33	25	22,06	15,50	22,06	17,11
	34	9	19,37	15,80	22,00	20,02
	35	21	21,62	19,28	19,14	19,73
	36	22	15,49	14,60	14,74	19,08
	M		24,72	18,13	22,11	22,65
	SD	9,66	3,34	4,91	5,76	
Gesamt	M		30,23	23,57	16,87	16,56
	SD		10,78	7,70	5,39	5,43

Anhangstabelle 29: Aktivität der Arginase im Leberhomogenat zu Versuchsende

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Aktivität				relative Aktivität ¹
			unaktiviert		aktiviert		
			U/g FM	U/g Protein	U/g FM	U/g Protein	
Mn-00	1	29	446	4,74	789	8,38	57
	2	27	321	3,57	601	6,69	53
	3	31	522	4,98	1114	10,63	47
	4	36	221	2,60	402	4,73	55
	5	14	383	4,39	731	8,38	52
	6	40	494	5,86	957	11,36	52
	M		398	4,36	766	8,36	53
	SD		113	1,14	253	2,45	3
Mn-02	7	23	1003	8,68	1452	12,57	69
	8	10	564	6,53	1141	13,22	49
	9	37	624	7,90	1091	13,82	57
	10	7	424	4,77	750	8,43	56
	11	11	413	4,05	846	8,30	49
	12	20	415	4,08	643	6,32	65
	M		574	6,00	987	10,44	58
	SD		228	2,00	298	3,14	8
Mn-04	13	12	681	8,39	716	8,83	95
	14	15	956	10,72	1540	17,26	62
	15	2	417	5,04	520	6,29	80
	16	33	463	5,25	555	6,29	83
	17	19	492	6,23	677	8,57	73
	18	18	418	5,13	635	7,79	66
	M		571	6,79	774	9,17	77
	SD		212	2,30	382	4,11	12
Mn-08	19	16	830	9,58	697	8,05	119
	20	24	926	9,74	1210	12,73	76
	21	38	776	7,69	1410	13,97	55
	22	26	649	6,27	850	8,21	76
	23	41	534	5,18	643	6,24	83
	24	13	592	5,89	635	6,32	93
	M		718	7,39	908	9,25	84
	SD		151	1,94	327	3,30	21
Mn-16	25	32	520	5,50	444	4,69	117
	26	4	835	7,86	815	7,67	102
	27	42	961	8,09	953	8,02	101
	28	28	676	5,94	735	6,46	92
	29	35	694	12,27	563	9,96	123
	30	8	805	7,16	789	7,01	102
	M		749	7,80	717	7,30	106
	SD		152	2,42	184	1,75	12
Mn-32	31	1	398	5,68	279	3,98	143
	32	30	1065	10,95	896	9,21	119
	33	25	626	6,16	654	6,43	96
	34	9	1113	10,04	1137	10,25	98
	35	21	557	5,57	543	5,43	102
	36	22	1152	11,40	1095	10,83	105
	M		819	8,30	767	7,69	111
	SD		329	2,78	335	2,80	18
Gesamt	M		638	6,77	820	8,70	81
	SD		241	2,40	297	2,99	26

¹ Quotient aus Aktivität unaktiviert durch aktiviert

Anhangstabelle 30: Proteingehalt in Geweben nach Bradford

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Proteingehalt g/kg FM					
			Leber	Lunge	Muskel	Niere	Pankreas	Herz
Mn-00	1	29	94,13	53,01	25,34	61,33	47,71	28,47
	2	27	89,80	53,40	31,32	63,43	71,76	35,00
	3	31	104,83	53,67	24,85	63,88	108,18	34,97
	4	36	85,03	50,68	43,34	63,76	98,73	33,25
	5	14	87,27	69,95	38,38	75,75	119,01	36,38
	6	40	84,23	56,82	50,01	75,42	98,22	32,39
	M		90,88	56,26	35,54	67,26	90,60	33,41
	SD		7,72	6,99	10,14	6,51	26,21	2,80
Mn-02	7	23	115,53	49,57	31,89	60,40	101,83	32,60
	8	10	86,33	52,99	38,22	55,80	107,84	30,40
	9	37	78,95	61,46	38,13	72,25	108,87	33,35
	10	7	88,93	64,66	35,77	63,70	102,86	30,16
	11	11	101,94	59,40	40,68	68,08	91,86	36,48
	12	20	101,80	56,32	28,58	70,77	88,25	30,74
	M		95,58	57,40	35,55	65,17	100,25	32,29
	SD		13,29	5,57	4,52	6,37	8,43	2,42
Mn-04	13	12	81,12	64,92	40,78	65,81	88,60	33,54
	14	15	89,22	69,61	40,50	69,63	103,89	34,49
	15	2	82,71	90,37	47,21	62,51	108,53	32,39
	16	33	88,21	51,67	34,21	59,65	87,22	30,95
	17	19	79,03	64,41	27,66	69,86	78,80	31,46
	18	18	81,56	59,16	39,59	68,24	125,54	30,95
	M		83,64	66,69	38,33	65,95	98,76	32,30
	SD		4,12	13,11	6,66	4,14	17,17	1,46
Mn-08	19	16	86,62	61,08	41,51	66,65	118,66	31,50
	20	24	95,07	66,95	38,54	65,02	74,68	28,20
	21	38	100,93	63,51	40,33	64,18	55,09	33,01
	22	26	103,53	60,05	45,67	63,45	117,29	34,27
	23	41	103,10	60,90	43,99	63,02	113,17	26,59
	24	13	100,50	58,91	31,98	62,57	82,93	31,64
	M		98,29	61,90	40,34	64,15	93,64	30,87
	SD		6,47	2,90	4,82	1,50	26,56	2,92
Mn-16	25	32	94,57	50,25	40,35	67,30	114,89	30,16
	26	4	106,28	59,89	38,74	60,45	104,92	27,96
	27	42	118,86	66,74	34,71	63,80	125,02	32,53
	28	28	113,80	62,22	16,77	61,22	100,28	34,80
	29	35	56,54	61,46	40,85	63,20	107,67	31,64
	30	8	112,50	45,88	46,29	58,18	103,89	28,10
	M		100,43	57,74	36,29	62,36	109,45	30,87
	SD		23,06	7,95	10,27	3,15	9,06	2,66
Mn-32	31	1	70,13	60,00	44,07	70,81	96,67	32,80
	32	30	97,24	49,85	10,08	59,58	85,85	35,04
	33	25	101,65	58,14	46,73	45,65	107,84	34,21
	34	9	110,91	55,41	45,74	64,30	36,71	32,84
	35	21	100,06	62,12	44,29	59,25	115,57	32,36
	36	22	101,07	59,75	36,27	61,92	111,45	32,32
	M		96,84	57,55	37,86	60,25	92,35	33,26
	SD		13,88	4,38	14,11	8,31	29,33	1,11
Gesamt	M		94,28	59,59	37,32	64,19	97,51	32,17
	SD		13,33	7,91	8,59	5,61	20,67	2,39

Anhangstabelle 31: Aktivität der manganabhängigen Superoxid-Dismutase bestimmt nach Özer

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	MnSOD-Aktivität U/g FM				
			Leber	Herz	Lunge	Muskel	Niere
Mn-00	1	29	429	252	135	102	347
	2	27	474	208	92	57	312
	3	31	309	243	101	67	303
	4	36	464	275	150	33	328
	5	14	588	239	128	40	369
	6	40	400	187	130	18	283
	M			444	234	123	53
	SD		92	32	22	30	31
Mn-02	7	23	438	173	133	20	314
	8	10	529	242	173	9	319
	9	37	347	183	203	8	344
	10	7	435	247	229	12	351
	11	11	506	222	249	97	367
	12	20	403	268	214	230	349
	M			443	223	200	63
	SD		67	38	42	89	20
Mn-04	13	12	441	365	238	158	381
	14	15	487	242	161	26	417
	15	2	273	489	196	53	387
	16	33	697	338	207	116	420
	17	19	539	346	221	87	445
	18	18	363	350	215	112	410
	M			467	355	206	92
	SD		147	79	26	47	23
Mn-08	19	16	471	450	270	130	424
	20	24	493	369	280	126	458
	21	38	525	313	116	81	318
	22	26	554	408	196	177	341
	23	41	435	344	168	156	372
	24	13	240	426	163	192	370
	M			453	385	199	144
	SD		112	52	64	40	52
Mn-16	25	32	386	508	202	125	412
	26	4	514	493	158	126	448
	27	42	520	490	168	152	438
	28	28	547	457	148	97	435
	29	35	377	462	163	52	453
	30	8	306	376	181	180	400
	M			442	464	170	122
	SD		98	47	19	44	21
Mn-32	31	1	413	502	129	134	375
	32	30	500	431	159	131	343
	33	25	528	503	228	153	321
	34	9	618	546	228	157	399
	35	21	403	491	199	192	370
	36	22	397	499	150	156	366
	M			477	495	182	154
	SD		88	37	42	22	27
Gesamt	M		454	359	180	105	375
	SD		97	115	46	61	48

Anhangstabelle 32: Aktivität der manganabhängigen Superoxid-Dismutase nach Özer bezogen auf Proteingehalt

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	MnSOD U/mg Protein				
			Leber	Muskel	Lunge	Niere	Herz
Mn-00	1	29	4,55	3,98	2,54	5,65	8,85
	2	27	5,28	1,81	1,73	4,92	5,94
	3	31	2,95	2,67	1,87	4,75	6,95
	4	36	5,45	0,75	2,97	5,15	8,28
	5	14	6,73	1,04	1,82	4,87	6,58
	6	40	4,75	0,34	2,28	3,75	5,76
	M		4,95	1,77	2,20	4,85	7,06
	SD		1,24	1,37	0,49	0,63	1,26
Mn-02	7	23	3,80	0,61	2,67	5,20	5,32
	8	10	6,12	0,21	3,26	5,72	7,97
	9	37	4,39	0,18	3,30	4,77	5,48
	10	7	4,89	0,30	3,54	5,51	8,20
	11	11	4,97	2,36	4,20	5,39	6,09
	12	20	3,95	8,02	3,81	4,94	8,71
	M		4,69	1,95	3,46	5,26	6,96
	SD		0,85	3,09	0,52	0,36	1,50
Mn-04	13	12	5,43	3,86	3,67	5,78	10,88
	14	15	5,46	0,63	2,32	5,99	7,02
	15	2	3,30	1,10	2,17	6,18	15,10
	16	33	7,91	3,39	4,00	7,05	10,93
	17	19	6,83	3,13	3,43	6,37	10,99
	18	18	4,44	2,82	3,63	6,01	11,30
	M		5,56	2,49	3,20	6,23	11,04
	SD		1,65	1,31	0,77	0,45	2,56
Mn-08	19	16	5,44	3,12	4,42	6,36	14,27
	20	24	5,19	3,25	4,18	7,04	13,10
	21	38	5,20	1,99	1,83	4,95	9,49
	22	26	5,35	3,85	3,26	5,37	11,90
	23	41	4,22	3,53	2,76	5,91	12,93
	24	13	2,39	5,98	2,76	5,91	13,46
	M		4,63	3,62	3,20	5,92	12,53
	SD		1,18	1,32	0,97	0,73	1,67
Mn-16	25	32	4,09	3,08	4,02	6,12	16,85
	26	4	4,83	3,24	2,64	7,40	17,64
	27	42	4,37	4,35	2,52	6,87	15,05
	28	28	4,80	5,77	2,37	7,11	13,14
	29	35	6,66	1,25	2,65	7,18	14,61
	30	8	2,72	3,88	3,95	6,88	13,37
	M		4,58	3,60	3,03	6,93	15,11
	SD		1,28	1,50	0,75	0,44	1,82
Mn-32	31	1	5,88	3,04	2,15	5,30	15,31
	32	30	5,14	12,95	3,18	5,76	12,29
	33	25	5,19	3,27	3,92	7,03	14,69
	34	9	5,57	3,41	4,11	6,20	16,62
	35	21	4,02	4,32	3,21	6,24	15,18
	36	22	3,93	4,27	2,50	5,91	15,45
	M		4,96	5,21	3,18	6,07	14,92
	SD		0,81	3,83	0,77	0,58	1,44
Gesamt	M		4,89	3,10	3,05	5,88	11,27
	SD		1,16	2,45	0,79	0,85	3,74

Anhangstabelle 33: Zusammensetzung des Gelenkknorpels

Gruppe	Käfig	Ohrmarke	Protein		DMB		URA	
			g/kg FM	g/kg FM	g/g Protein	g/kg FM	mg/g Protein	
Mn-00	1	29	50,8	91,2	1,80	2,50	49,3	
	2	27	46,3	78,2	1,69	2,30	49,8	
	3	31	42,1	91,5	2,17	2,46	58,5	
	4	36	36,5	58,1	1,59	1,96	53,6	
	5	14	44,1	78,0	1,77	2,06	46,6	
	6	40	31,5	51,2	1,63	1,88	59,7	
	M		41,9	74,7	1,78	2,19	52,9	
	SD		6,9	16,8	0,21	0,26	5,3	
Mn-02	7	23	49,8	64,7	1,30	1,72	34,4	
	8	10	34,2	47,1	1,38	1,63	47,6	
	9	37	32,6	68,6	2,11	1,86	57,0	
	10	7	40,7	87,1	2,14	2,32	57,0	
	11	11	31,2	49,0	1,57	1,65	53,0	
	12	20	32,1	53,7	1,67	1,72	53,6	
	M		36,8	61,7	1,70	1,82	50,4	
	SD		7,2	15,1	0,36	0,26	8,6	
Mn-04	13	12	30,9	53,6	1,74	1,65	53,6	
	14	15	37,6	71,6	1,90	2,03	53,9	
	15	2	40,2	92,5	2,30	2,43	60,4	
	16	33	30,1	58,3	1,94	1,72	56,9	
	17	19	31,3	54,5	1,74	1,76	56,3	
	18	18	31,2	54,4	1,74	1,87	60,0	
	M		33,6	64,2	1,89	1,91	56,9	
	SD		4,2	15,4	0,22	0,29	2,9	
Mn-08	19	16	44,5	99,2	2,23	2,68	60,3	
	20	24	39,9	75,2	1,88	2,45	61,3	
	21	38	33,9	86,1	2,54	2,50	73,8	
	22	26	49,6	85,6	1,73	2,66	53,6	
	23	41	43,4	79,8	1,84	2,48	57,1	
	24	13	40,3	73,9	1,83	2,48	61,6	
	M		41,9	83,3	2,01	2,54	61,3	
	SD		5,3	9,3	0,31	0,10	6,8	
Mn-16	25	32	50,7	104,8	2,07	3,19	62,9	
	26	4	42,2	91,4	2,17	2,70	64,1	
	27	42	35,3	81,8	2,32	2,46	69,6	
	28	28	42,9	91,9	2,14	2,72	63,4	
	29	35	44,8	107,6	2,40	2,95	65,8	
	30	8	55,1	107,3	1,95	3,26	59,2	
	M		45,2	97,5	2,18	2,88	64,2	
	SD		6,9	10,6	0,16	0,31	3,4	
Mn-32	31	1	46,1	108,7	2,36	2,53	54,9	
	32	30	33,3	82,6	2,48	2,39	71,8	
	33	25	45,4	97,3	2,14	2,80	61,6	
	34	9	35,5	72,8	2,05	2,16	60,7	
	35	21	41,1	95,3	2,32	2,70	65,6	
	36	22	46,6	97,4	2,09	3,03	65,0	
	M		41,3	92,4	2,24	2,60	63,3	
	SD		5,8	12,7	0,17	0,31	5,7	
Gesamt	M		40,1	78,9	1,96	2,32	58,2	
	SD		6,9	18,5	0,31	0,46	7,5	

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Pallauf für die Überlassung des Themas und seine immer gewährte freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Ich danke dem gesamten Personal des Institutes für Tierernährung für die überaus freundliche und familiäre Aufnahme am Institut und die tatkräftige Unterstützung dieser Arbeit.

Es sind hier namentlich hervorzuheben Herr Christian Spangenberg, der den Versuch mit vorbereitete und die Futtermittel organisierte sowie Frau Silke Hees, Herr Marco Jäger, Herr Steffen Brückel die unermüdlichen Einsatz im Stoffwechsellabor bei Vorbereitung, Durchführung, Abschluß und Nachbereitung des Versuchs zeigten. Im Besonderen gedankt sei Frau Schneider, welche am Institut etablierte Manganbestimmungsmethoden an das neu erworbene Perkin Elmer GF-AAS anpasste und Frau Dr. Most die nicht nachlies auf der Suche nach Optimierungsmöglichkeiten für den Probenaufschluss der doch mitunter ungünstigen Probenmatrices. Herrn Helmut Henzel danke ich für die Durchführung der Weender Analysen. Herrn Klaus Brandl danke ich für die intensive Zusammenarbeit bei der Etablierung und Optimierung der Enzymassays. Frau Dr. Bettina Nier und Herrn Dr. Andreas Müller danke ich für die Unterstützung bei der methodischen Einarbeitung in die Fragestellung und ihre dabei angebrachten wichtigen Denkanstöße. Herrn Andreas Breitstadt und seinen Kollegen danke ich für die immer schnelle und zuverlässige Lösung technischer Probleme jeder Art.

Ich möchte mich auch bei Herrn Josef Scheffold und seiner Familie ganz herzlich bedanken für das Engagement und das zur Verfügung stellen der Versuchstiere.

Ich danke der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität Gießen für die Durchführung der hämatologischen Untersuchungen und Herrn Dr. Manfred Hollenhorst für seine geduldige Unterstützung bei der Lösung statistischer Probleme.

Meiner Frau Simone und Frau Dr. Ann-Kristin Morys danke ich für die Durchsicht des Manuskriptes.

Allen jetzigen und ehemaligen Mitgliedern und Mitarbeitern des Institutes für Tierernährung und Ernährungsphysiologie danke ich für die schöne Zeit am Institut, die ich nie vergessen werde.

Ich danke meiner Frau Simone für die Geduld und Unterstützung, die sie mir während der Zeit der Durchführung dieser Studie entgegengebracht hat und meinen Eltern für die intensive Förderung meiner gesamten Ausbildung.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Christian Kauer, geb. Dreisbach
Anschrift: Hauptstrasse 11
57632 Walterschen
Geboren: am 29.03.1976 in Gummersbach
Familienstand: verheiratet seit dem 26.03.2004 mit Dr. Simone Kauer, Tierärztin

Schulausbildung

1982-1984: Grundschule Hunsheim
1984-1986: Grundschule Kirchen
1986-1988: Gemeinsame Eingangsstufe des Freiherr vom Stein Gymnasiums und der Geschwister Scholl Realschule Betzdorf
1988-1992: Geschwister Scholl Realschule Betzdorf
1992-1995: Berufliche Schule für Technik mit Gymnasialer Oberstufe Siegen
Schulabschluß: Allgemeine Hochschulreife

Dienst

1995-1996: Zivildienst im evangelischen Altenzentrum Kirchen

Studium

1996-2001 Studium der Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen

Abschluß:

07.02.2002 Approbation als Tierarzt

Dissertation

seit 01.03.2002: Doktorand am Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie der Justus-Liebig-Universität Gießen. In den Jahren 2003 und 2004 Finanzierung durch ein „Graduiertenstipendium nach dem Hessischen Gesetz zur Förderung von Nachwuchswissenschaftlern“ (HGFÖN)

Praxistätigkeit

Seit 01.11.2004: Tätigkeit als Assistent in der Praxis Dr. med. vet Klaus Schifferings in Rott